

EPIDEMIOLOGISCHE STUDIE ZUR VERBREITUNG PORCINER RESPIRATORISCHER KRANKHEITS- ERREGER BEIM WILDSCHWEIN IN DEUTSCHLAND

CHRISTINA FRESSEN

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines

Dr. med. vet.

beim Fachbereich Veterinärmedizin

der Justus-Liebig-Universität Gießen



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung des Autors oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2009

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Author or the Publishers.

1st Edition 2009

© 2009 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen
Printed in Germany



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890
email: redaktion@doktorverlag.de

www.doktorverlag.de

Aus dem Klinikum Veterinärmedizin
Klinik für Wiederkäuer und Schweine
(Innere Medizin und Chirurgie)
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Betreuer: Prof. Dr. Dr. habil. G. Reiner

**Epidemiologische Studie zur Verbreitung
porciner respiratorischer Krankheitserreger
beim Wildschwein in Deutschland**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Dr. med. vet.
beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

eingereicht von

Christina Fresen

Tierärztin aus Warstein

Gießen 2009

**Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen**

Dekan: Prof. Dr. Dr. habil. G. Baljer

Gutachter: Prof. Dr. Dr. habil. G. Reiner
Prof. Dr. T. Rümenapf

Tag der Disputation: 12.02.2009

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

1. EINLEITUNG	1
2. LITERATURÜBERSICHT	3
2.1 RESPIRATORISCHE KRANKHEITSERREGER BEIM SCHWEIN	3
2.1.1 <i>PRRSV</i>	6
2.1.1.1 Erregermerkmale	6
2.1.1.2 Epidemiologie	8
2.1.2 <i>INFLUENZAVIRUS A</i>	8
2.1.2.1 Erregermerkmale	10
2.1.2.2 Epidemiologie	12
2.1.3 <i>MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE</i>	13
2.1.3.1 Erregermerkmale	13
2.1.3.2 Epidemiologie	14
2.1.4 <i>ACTINOBACILLUS PLEUROPNEUMONIAE</i>	16
2.1.4.1 Erregermerkmale	16
2.1.4.2 Epidemiologie	17
2.1.5 <i>HAEMOPHILUS PARASUIS</i>	18
2.1.5.1 Erregermerkmale	18
2.1.5.2 Epidemiologie	20
2.1.6 <i>STREPTOCOCCUS SUI</i>	21
2.1.6.1 Erregermerkmale	21
2.1.6.2 Epidemiologie	23
2.1.7 <i>PASTEURELLA MULTOCIDA / BORDETELLA BRONCHISEPTICA</i>	24
2.1.7.1 Erregermerkmale	24
2.1.7.2 Epidemiologie	27
2.2 ERREGERINTERAKTIONEN	28
2.2.1 INTERAKTIONEN ZWISCHEN DEM <i>PRRSV</i> UND ANDEREN RESPIRATORISCHEN KRANKHEITSERREGERN	28
2.2.2 INTERAKTIONEN ZWISCHEN VERSCHIEDENEN RESPIRATORISCHEN KRANKHEITSERREGERN AUßER <i>PRRSV</i>	29
2.3 DAS WILDSCHWEIN ALS ERREGERRESERVOIR	31
2.3.1 SOZIALSTRUKTUR UND POPULATIONSDICHTE ALS WICHTIGE EINFLUSSFAKTOREN FÜR DIE VERBREITUNG VON KRANKHEITSERREGERN	31
2.3.2 DIE EPIDEMIOLOGIE DER VIRUSÜBERTRAGUNG AM BEISPIEL DER KLASSISCHEN SCHWEINEPEST	33
2.3.3 DIE EPIDEMIOLOGIE DER VIRUSÜBERTRAGUNG AM BEISPIEL DER AUJESZKYSCHEN KRANKHEIT	38
2.4 DAS VORKOMMEN VIRALER UND BAKTERIELLER (RESPIRATORISCHER) KRANKHEITSERREGER BEIM WILDSCHWEIN	41
2.4.1 <i>PRRSV</i>	41
2.4.2 <i>INFLUENZAVIRUS A</i>	42
2.4.3 BAKTERIELLE KRANKHEITSERREGER	42

3. MATERIAL UND METHODEN	44
3.1 PROBENMATERIAL	44
3.1.1 ENTNAHME UND KONSERVIERUNG	47
3.1.2 ZAHNALTERSBESTIMMUNG	47
3.1.3 GEWICHTSSCHÄTZUNG	47
3.2 BEARBEITUNG DES PROBENMATERIALS	48
3.2.1 DNA / RNA ISOLIERUNG AUS LUNGENGeweBE UND TONSILLEN	48
3.2.2 PROBENBEARBEITUNG IM RAHMEN DER BAKTERIOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN	49
3.3 PCR	49
3.3.1 NACHWEIS VON <i>PRRSV</i> UND <i>INFLUENZAVIRUS A</i>	49
3.3.2 NACHWEIS VON <i>M. HYOPNEUMONIAE</i> , <i>A. PLEUROPNEUMONIAE</i> UND <i>H. PARASUIS</i>	53
3.3.3 NACHWEIS TOXINBILDENDER <i>P. MULTOCIDA</i>	55
3.4 GELELEKTROPHORESE	56
3.5 PHOTODOKUMENTATION	56
3.6 SEQUENZIERUNGSARBEITEN	57
3.6.1 NESTED PCR	57
3.6.2 AUFREINIGUNG DER PCR-AMPLIFIKATE	58
3.6.3 SEQUENZIERUNG	58
4. ERGEBNISSE	59
4.1 DARSTELLUNG DER KRANKHEITSERREGER MITTELS AGAROSE-GELELEKTROPHORESE	59
4.2 VIRALE RESPIRATORISCHE KRANKHEITSERREGER	61
4.2.1 <i>PRRSV</i>	61
4.2.1.1 Prävalenzen	61
4.2.1.2 Gewebeverteilung	65
4.2.1.3 Sequenzunterschiede	65
4.2.2 <i>INFLUENZAVIRUS A</i>	70
4.2.2.1 Prävalenzen	70
4.2.2.2 Gewebeverteilung	73
4.3 BAKTERIELLE RESPIRATORISCHE KRANKHEITSERREGER	73
4.3.1 <i>MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE</i>	73
4.3.1.1 Prävalenzen	73
4.3.1.2 Gewebeverteilung	76
4.3.2 <i>ACTINOBACILLUS PLEUROPNEUMONIAE</i>	76
4.3.2.1 Prävalenzen	76
4.3.2.2 Gewebeverteilung	79
4.3.3 <i>HAEMOPHILUS PARASUIS</i>	79
4.3.3.1 Prävalenzen	79
4.3.3.2 Gewebeverteilung	82
4.3.4 α -HÄMOLYSIERENDE <i>STREPTOKOKKEN</i>	82
4.3.4.1 Prävalenzen	82
4.3.5 <i>PASTEURELLA MULTOCIDA</i>	85
4.3.5.1 Prävalenzen	85
4.3.6 <i>BORDETELLA BRONCHISEPTICA</i>	88
4.3.6.1 Prävalenzen	88

5. DISKUSSION	89
5.1 PRÄVALENZEN	90
5.1.1 <i>PRRSV</i>	91
5.1.2 <i>INFLUENZAVIRUS A</i>	92
5.1.3 <i>MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE</i>	93
5.1.4 <i>ACTINOBACILLUS PLEUROPNEUMONIAE</i>	94
5.1.5 <i>HAEMOPHILUS PARASUIS</i>	95
5.1.6 <i>α-HÄMOLYSIERENDE STREPTOKOKKEN</i>	97
5.1.7 <i>PASTEURELLA MULTOCIDA</i>	99
5.1.8 <i>BORDETELLA BRONCHISEPTICA</i>	100
5.2 GEWEBEVERTEILUNG	101
5.3 ERREGERINTERAKTIONEN	103
5.4 INTERAKTION ZWISCHEN WILD- UND HAUSSCHWEINEN	103
5.5 SEQUENZIERUNG AUSGEWÄHLTER <i>PRRSV</i>-AMPLIFIKATE	106
5.6 EINFLUSS DER METHODIK AUF DIE UNTERSUCHUNGSERGEBNISSE	108
5.7 SCHLUSSFOLGERUNG	111
6. ZUSAMMENFASSUNG	112
7. SUMMARY	115
8. LITERATURVERZEICHNIS	118
9. ANHANG	164
9.1 ANSÄTZE FÜR VERWENDETE LÖSUNGEN	164
9.2 DANKSAGUNG	165
10. ERKLÄRUNG	167

Abkürzungsverzeichnis

α-häm. Streptokokken

°C

µg

µl

µM

A. pleuropneumoniae

A. minor

A. indolicus

Abb.

ADE

AK

Apx

APP

BAL

BALF

Bp

bzw.

c.a.

d.h.

DNA

dNTP

DTT

E. rhusiopathiae

ELISA

et al.

Fa.

g

H

ha

α-hämolysierende Streptokokken

Grad Celsius

Mikrogramm

Mikroliter

Mikromolar

Actinobacillus pleuropneumoniae

Actinobacillus minor

Actinobacillus indolicus

Abbildung

antibody dependent enhancement

Aujeszkysche Krankheit

Actinobacillus pleuropneumoniae Toxin

Actinobacillus pleuropneumoniae

Bronchoalveolar Lavage

Bronchoalveolar Lavage Fluid

Basenpaare

beziehungsweise

circa

das heißt

desoxyribonucleic acid

2'-Desoxynukleosid-5'-triphosphat

Dithiothreitol

Erysipelothrix rhusiopathiae

enzyme linked immunosorbent assay

et aliter

Firma

Fallbeschleunigung

Haemagglutinin

Hektar

HAHT	Haemagglutinationshemmungstest
<i>H. parasuis</i>	<i>Haemophilus parasuis</i>
HPS	<i>Haemophilus parasuis</i>
Hz	Hertz
IgA	Immunglobulin A
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
IPMA	immunoperoxidase monolayer assay
KBR	Komplement-Bindungs-Reaktion
KSP	Klassische Schweinepest
km	Kilometer
LDHV	<i>Lactatdehydrogenase-elevating-Virus</i>
LPS	Lipopolysaccharid
M	molar
<i>M. hyopneumoniae</i>	<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>
min	Minute
mg	Milligramm
ml	Milliliter
MgCl	Magnesium Chlorid
MHP	<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>
MLV	modified live virus
mM	millimolar
N	Neuraminidase
NAD	Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid
ng	Nanogramm
Nr.	Nummer
n.u.	nicht untersucht
NPAR	Nichtprogressive Atrophische Rhinitis
ORF	open reading frame
<i>P. multocida</i>	<i>Pasteurella multocida</i>
PAR	Progressive Atrophische Rhinitis
PCR	polymerase chain reaction

<i>PCV</i>	<i>Porcine Circovirus</i>
pH	pondus Hydrogenii
p.i.	post infectionem
PNP	Proliferative und Nekrotisierenden Pneumonie
PRDC	porcine respiratory disease complex
PRRS	porcine reproductive and respiratory syndrome
<i>PRRSV</i>	<i>porcine reproductive and respiratory syndrome virus</i>
<i>PRV</i>	<i>Pseudorabiesvirus</i>
RNA	ribonucleic acid
RNAse	Ribonuklease
RT-PCR	reverse transcriptase polymerase chain reaction
RTX	repeats – in – toxin
s	Sekunden
<i>S. suis</i>	<i>Streptococcus suis</i>
<i>S. choleraesuis</i>	<i>Salmonella choleraesuis</i>
s.o.	Siehe oben
sog.	So genannt
SPF	Spezifisch-Pathogen-Frei
s.u.	Siehe unten
u.a.	unter anderem
Tab.	Tabelle
US	United States
USA	United States of America
V	Volt
z.B.	Zum Beispiel

1. Einleitung

Respiratorische Erkrankungen bei Schweinen sind für die moderne Schweineproduktion von großer wirtschaftlicher Bedeutung. Insbesondere durch die Zunahme des Tierhandels und die regional zum Teil erheblich gestiegene Schweinedichte fand in den letzten Jahren eine weite Erregerverbreitung statt. Dabei liegen häufig Mischinfektionen mit verschiedenen viralen und/oder bakteriellen pneumopathogenen Erregern vor, deren Interaktionen eine erhebliche Bedeutung bei der Entstehung von Atemwegserkrankungen beigemessen wird.

In diesem Zusammenhang sind zwei Krankheitskomplexe zu nennen. Der PRDC (porcine respiratory disease complex) stellt eine Erkrankung dar, die vornehmlich Mastschweine in einem Alter zwischen 16 - 22 Wochen betrifft und auf unterschiedliche Kombinationen viraler und bakterieller Erreger wie dem *Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV)*, *Influenzavirus A*, *Porcine Circovirus Typ 2 (PCV 2)*, *M. hyopneumoniae*, *A. pleuropneumoniae* und *P. multocida* zurückgeführt wird (Halbur, 1998; Thacker, 2001). In erster Linie scheint die Erkrankung durch eine Infektion mit *PRRSV* und *M. hyopneumoniae* verursacht zu werden, während weitere Erreger wie z.B. *PCV 2* vermutlich eher eine untergeordnete Rolle spielen (Thacker & Thacker, 2000). Für die Proliferative und Nekrotisierende Pneumonie (PNP) konnte bislang noch kein primäres Agens ausgemacht werden. Während Drolet et al. (2003) das *PRRSV* als primären Erreger der PNP vermuten, sehen andere Forschergruppen die Ursache der Erkrankung in einer Ko-Infektion von *PRRSV* und *PCV 2* (Pesch et al., 2000; Segalés et al., 2004).

Wildschweine spielen als Erregerreservoir bei der Verbreitung von Infektionskrankheiten wie der Klassischen Schweinepest oder der Aujeszkyschen Krankheit eine wichtige Rolle. Einige serologische Untersuchungen zum Vorkommen von verschiedenen porcinen Krankheitserregern bei Wildschweinen weisen auf Infektionen mit Atemwegserregern bei diesen Tieren hin. Nur wenige der Studien stammen jedoch aus

Deutschland und beziehen sich wenn auf einen verhältnismäßig kleinen Landesteil. Studien über direkte Erregernachweise oder gar klinische Erkrankungen sind rar. Somit ist die Bedeutung von Wildschweinen für die Verbreitung von respiratorischen Krankheitserregern weitgehend unklar und die Frage nach möglichen Übertragungswegen zwischen Haus- und Wildschweinen offen.

Die vorliegende Arbeit verfolgt das Ziel, das Vorkommen von respiratorischen Krankheitserregern bei Wildschweinen in verschiedenen Regionen Deutschlands zu untersuchen. Im Gegensatz zu den bisher publizierten Prävalenzstudien bei Wildschweinen, die fast ausschließlich auf der serologischen Feststellung von Erregerprävalenzen zu einem bestimmten Zeitpunkt beruhen, wurde in der vorliegenden Arbeit Wert auf einen direkten Erregernachweis gelegt. So kann bei positivem Ergebnis mit großer Wahrscheinlichkeit von einer Infektion des Wildschweins zum Zeitpunkt der Probenentnahme ausgegangen werden. Zudem wurden einige Reviere im Abstand von ca. einem Jahr ein zweites Mal beprobt. Die Untersuchungen sollen dazu beitragen, die bislang nur spärlichen Informationen über Prävalenzen von Atemwegserregern bei Wildschweinen zu erweitern und Erkenntnisse über die Interaktionsfähigkeit der Erreger beim Wildschwein zu erlangen. Weitere wichtige Aspekte sind die Fragestellung nach der Reservoirfunktion des Wildschweins bezüglich porciner respiratorischer Krankheitserreger sowie nach der Ausbreitungsrichtung und den Übertragungswegen zwischen Haus- und Wildschweinen.

2. Literaturübersicht

2.1 Respiratorische Krankheitserreger beim Schwein

Atemwegserkrankungen beim Schwein treten im Rahmen spezifischer respiratorischer Erkrankungen oder im Verlauf von Allgemeinerkrankungen mit klinischer Manifestation am Respirationstrakt auf. Während Erreger wie *PRRSV*, *Influenzavirus A*, *A. pleuropneumoniae*, *M. hyopneumoniae*, *P. multocida* und *B. bronchiseptica* den spezifischen Atemwegserkrankungen zugeordnet werden können, werden *H. parasuis* und *Streptokokken* als Auslöser von Allgemeinerkrankungen mit Beteiligung verschiedener Organsysteme angesehen.

Klinisch signifikante Erkrankungen sind allerdings selten die Folge einer Monoinfektion, sondern meist auf die Beteiligung mehrerer Krankheitserreger zurückzuführen. Häufig agieren Viren und Mykoplasmen durch eine Schwächung der lokalen und teilweise auch der systemischen Immunabwehr als Wegbereiter für eine bakterielle Sekundärinfektion. Respiratorische Erkrankungen sind zudem meist multifaktoriell bedingt und entstehen als Ergebnis einer Reihe komplexer Ereignisse, die sowohl durch infektiöse als auch durch Umwelt-, Management- und genetische Faktoren bestimmt werden (Christensen et al., 1999).

Die Prävalenzen einiger respiratorisch relevanter Krankheitserreger in deutschen Hausschweinbeständen sind in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1: Nachweishäufigkeit respiratorisch relevanter Krankheitserreger in deutschen Hausschweinbeständen

	Herden / Tiere	Herden* - / Einzel-tier- Prävalenz (in %)	Untersuchungs- Methode	Untersuchungsgebiet / - zeitraum	Quelle
PRRSV	/ 1480 70 / 265 4 / 689 /	48 69 0,98 - 1,0 # 71*	se se se se	Ostdeutschland, 1989-1990 Niedersachsen, 1992-1994 Nordfriesland	Ohlinger et al., 2000 Groschup et al., 1993 Grosse Beilage, 1999 Geue, 1995
Influenzavirus A	4 /	0,64 - 0,78 #	se	Niedersachsen, 1992-1994	Grosse Beilage, 1999
H1N1					
A/swine/Arnsberg/1/81	/ 1268	32	se	Hessen, 1986-1988	Zhang, 1989
A/Swine/Iowa/15/30	/ 1268	25	se	Hessen, 1986-1988	Zhang, 1989
A/New Jersey/7/76	/ 1268	24	se	Hessen, 1986-1988	Zhang, 1989
A/swine/Nederland/25/80	47 / 526	59	se	Ostdeutschland, 1987/1988	Teuffert et al., 1991
A/swine/Arnsberg/1/81	214 / 2115	23*	se	Schleswig-Holstein, 1989	Ewald et al., 1994
A/swine/Schwerin/103/98	70 / 265	55	se		Groschup et al., 1993
A/swine/Schwerin/103/98	4 / 345	35	se	Niedersachsen, 1993/1994	Schenk, 1999
A/swine/Bakum/5/95	50 / 1049	66	se	Niedersachsen, 1995	Schenk, 1999
A/swine/Bakum/5/95	136 / 2083	59	se	Niedersachsen, 1996	Schenk, 1999
FLUAV/sw/Bakum/3543/98	106 / 1392	96*	se	Niedersachsen, 1996	Hiltermann-Linden, 2004
FLUAV/sw/Bakum/5/95	219 / 2723	92* / 71	se / vi	Deutschland, 2002-2003	Wieczorek et al., 2003
	219 / 2723	1* / 0,2	se / vi	Deutschland, 2002-2003	Wieczorek et al., 2003
H1N2					
FLUAV/sw/Bakum/1832/00	219 / 2723	17* / 12	se / vi	Deutschland, 2002-2003	Wieczorek et al., 2003

se = serologisch, vi = virologisch, ba = bakteriologisch, x toxinogene *P. multocida*, # Kumulative Inzidenz in vier Beständen im Verlauf von 16 Mastwochen

Erreger	Herden / Tiere	Herden *- / Einzeltier- Prävalenz (in %)	Untersuchungs- Methode	Untersuchungsgebiet / - zeitraum	Quelle
Influenzavirus A					
H3N2					
A/Victoria/1/75	/ 1268	23	se	Hessen, 1986-1988	Zhang, 1989
A/Hong Kong/1/68	/ 1268	14	se	Hessen, 1986-1988	Zhang, 1989
A/Philippines/2/82	/ 1268	11	se	Hessen, 1986-1988	Zhang, 1989
A/Philippines/2/82	47 / 526	42	se	Ostdeutschland, 1987/1988	Teuffert et al., 1991
A/Port Chalmers/1/73	214 / 2115	21*	se	Schleswig-Holstein, 1989	Ewald et al., 1994
A/Hong Kong/1/68	214 / 2115	5*	se	Schleswig-Holstein, 1989	Ewald et al., 1994
A/swine/Bakum/909/93	70 / 265	51	se		Groschup et al., 1993
A/swine/Bakum/909/93	4 / 345	73	se	Niedersachsen, 1993/1994	Schenk, 1999
A/swine/Bakum/909/93	50 / 1049	33	se	Niedersachsen, 1995	Schenk, 1999
A/swine/Bakum/909/93	136 / 2083	18	se	Niedersachsen, 1996	Schenk, 1999
A/swine/Bakum/909/93	106 / 1392	61*	se	Niedersachsen, 1996	Hiltermann-Linden, 2004
FLUAV/sw/Bakum/909/93	219 / 2723	74* / 50	se / vi	Deutschland, 2002-2003	Wieczorek et al., 2003
M. hyopneumoniae					
	7 /	68	se / ba	Sachsen	Fleischer et al., 1993
		84*	se	Niedersachsen	Horst et al, 1997
	4 /	0,33-0,49 #	se	Niedersachsen, 1992-1994	Grosse Beilage, 1999
	106 / 1392	97*	se	Niedersachsen, 1996	Hiltermann-Linden, 2004
		100*	se	Weser-Ems-Gebiet	Pfützner & Blaha, 1995
A. pleuropneumoniae					
	136 / 2605	56	se	Weser-Ems-Gebiet	Poppe, 1997
	4 /	0,21 - 0,83 #	se	Niedersachsen, 1992-1994	Grosse Beilage, 1999
P. multocida					
	4 /	35 ^x	se		Bechmann und Schöls, 1990
		0,14 - 0,6 #	se	Niedersachsen, 1992-1994	Grosse Beilage, 1999

se = serologisch, vi = virologisch, ba = bakteriologisch, x toxinogene *P. multocida*, # Kumulative Inzidenz in vier Beständen im Verlauf von 16 Mastwochen

2.1.1 *PRRSV*

2.1.1.1 Erregermerkmale

Bei dem *PRRSV* (*Porcine Reproductive and Respiratory Syndrom Virus*) handelt es sich um ein einsträngiges, behülltes RNA-Virus, das dem Genus *Arterivirus* der Familie der *Arteriviridae* zugeordnet wird (Cavanagh, 1997). Von dem Virus existieren zwei unterschiedliche Genotypen, ein europäischer und ein amerikanischer (Wensvoort et al., 1992; Bautista et al., 1993). Amerikanische und europäische Isolate besitzen dabei lediglich eine genetische Übereinstimmung von 55 – 70 % (Meng et al., 1995; Morozov et al., 1995; Mardassi et al., 1994; Gagnon und Dea, 1998; Nelsen et al. 1999).

Im Rahmen der Sequenzierung der ORFs (open reading frame) des *PRRSV* fällt eine ausgeprägte genetische Variabilität insbesondere innerhalb der amerikanischen (Magar et al., 1995; Kapur et al., 1996; Pirzadeh et al. 1998, Allende et al., 1999; Nelsen et al., 1999; Goldberg et al., 2000), aber auch unter den europäischen Isolaten (Drew et al., 1997; Andreyev et al., 2000; Indik et al., 2000; Forsberg et al., 2001; Bignotti et al., 2002; Forsberg et al., 2002; Schmoll et al., 2002; Stadejek et al., 2002, Pesch, 2003) auf. Zudem wurde das Vorkommen unterschiedlich virulenter *PRRSV*-Stämme beschrieben (Halbur et al., 1996a, b; Thanawongnuwech et al., 1998; Mengeling et al., 1994, 1996, 1998; Park et al., 1996; Cheon & Chae, 2004; Johnson et al, 2004).

Das *PRRSV* besitzt einen spezifischen Tropismus zu gut differenzierten Zellen des Monozyten / Makrophagen-Systems in der Lunge und in lymphatischen Geweben (Duan et al., 1997, Labarque et al., 2000; Vanderheijden et al., 2003). Es wurde vermutet, dass die Virusvermehrung in antigenpräsentierenden Zellen des Immunsystems, insbesondere in den Alveolarmakrophagen, zusammen mit der auftretenden Leukopenie zur Schwächung des unspezifischen Abwehrsystems führen und das Risiko für Sekundärinfektionen der Lunge erhöhen (Drew, 1999).

Das klinische Bild der *PRRSV*-Infektion ist sehr variabel, wobei subklinische Verläufe häufig sind (Zimmerman et al., 1997b). Als Besonderheit ist der wechselhafte Krankheitsverlauf bei an Pneumonie erkrankten Läuferschweinen zu nennen. Klinische Symptome beginnen bei den einzelnen Tieren nicht gleichzeitig, sondern scheinbar zufällig, bis zahlreiche Schweine der Stallabteilung oder Altersgruppe erkrankt sind. Nach einem wechselnden Verlauf über drei bis fünf Wochen sind fast alle betroffenen Tiere innerhalb weniger Tage fieberfrei und weisen ein ungestörtes Allgemeinbefinden auf. Wenige Tage nach einer scheinbar wirksamen antibiotischen Therapie erkranken die Tiere häufig erneut, und das wiederholt (Waldmann & Wendt, 2004). Von Terpstra et al. (1991) wurde erstmals das Vorkommen einer intrauterinen Infektion beschrieben. Das Infektionsrisiko steigt mit zunehmender Trächtigkeitsdauer, so dass eine Infektion im letzten Drittel der Trächtigkeit in der Regel auf alle Feten übergeht (Christianson et al., 1993, Lager et al., 1996).

Immunglobuline der Klasse M können erstmals etwa fünf Tage p.i. nachgewiesen werden, die der Klasse G ab dem siebten bis zehnten Tag p.i. (Yoon et al., 1992; Joo et al., 1997). Neutralisierende Antikörper treten langsamer und erst zu einem späteren Zeitpunkt der Infektion, d.h. in der Regel etwa nach vier Wochen p.i. auf (Yoon et al., 1994; Meier et al., 2000, 2003). Die Ergebnisse verschiedener Untersuchungen weisen allerdings darauf hin, dass weder die Antikörper aus der frühen Phase der Infektion (Yoon et al., 1994; Loemba et al., 1996; Molitor et al., 1997; Labarque et al., 2000; Snijder & Meulenberg, 2001), noch die neutralisierenden Antikörper (Wills et al., 1997c; Murtaugh et al., 2002) in der Lage sind, das Virus zu eliminieren und so einen Schutz vor der Infektion mit dem *PRRSV* zu gewährleisten.

Die passive Immunität junger Schweine durch maternale Antikörper ist nur von kurzer Dauer, so dass Ferkel mit einem Alter von vier bis zehn Wochen für eine Infektion oder Reinfektion empfänglich sein können (Albina et al., 1994; Houben et al., 1995). Der progressive Verlust von Antikörpern bei immunkompetenten Schweine, zum Teil sechs Monate nach der Erstinfektion, weist auf eine ebenfalls nur kurze aktive Immunität hin (Ohlinger et al., 1992).

Die scheinbar bevorzugte Ausprägung von Krankheitssymptomen bei Ferkeln wurde mit dem so genannten *antibody dependent enhancement* (ADE) in Verbindung gebracht. Sinkt die Konzentration der maternalen Antikörper unter den protektiven Wert, kommt es zu einer Verschlimmerung der Infektion durch eine Antikörper vermittelte Aufnahme von Virus in die Makrophagen (Yoon et al., 1994; Shibata et al., 1998b).

2.1.1.2 Epidemiologie

Erste Beschreibungen des klinischen Bildes des PRRS in den USA und Kanada gehen ab 1987 auf Keffaber (1989) und Dea et al. (1990) zurück, während innerhalb Europas erste Krankheitsausbrüche im Jahr 1991 in Deutschland beschrieben wurden (Leyk, 1991; Lindhaus & Lindhaus, 1991). Die Herkunft des PRRSV ist unklar. Eine Hypothese über den Ursprung des Virus besagt, dass eine Mutante eines nah mit dem *PRRSV* verwandten Arterivirus von Mäusen (Lactatdehydrogenase-Virus / LDHV) Wildschweine in Zentraleuropa infizierte, welche als Zwischenwirt dienten. 1912 sei das Virus dann über importierte, infizierte Wildschweine nach North Carolina gelangt, woraufhin es sich innerhalb der bestehenden Wildschweinpopulationen auf den zwei Kontinenten unabhängig voneinander weiterentwickelt habe, bis es 70 Jahre später in die Hausschweinpopulation gelangt sei (Plagemann, 2003). Hanada et al. (2005) hingegen nehmen an, dass das *PRRSV* von einem anderen Wirt um das Jahr 1980 herum auf Schweine übertragen wurde, und sich dann explosionsartig in der Hausschweinpopulation ausgebreitet hat. Heute können Antikörper gegen das *PRRSV* weltweit in den meisten Regionen mit intensiver Schweinehaltung nachgewiesen werden (Meredith, 1995). Die Einführung des amerikanischen *PRRSV* in Europa erfolgte durch den Einsatz von attenuiertem Lebendimpfstoff (Bøtner et al., 1997).

Die Infektion mit dem *PRRSV* findet in der Regel durch Nasenkontakt und Aerosole (Terpstra et al., 1991) oder durch virushaltiges Ejakulat statt (Christopher-Hennings et al., 1995). Die Virusausscheidung erfolgt über Nasensekret, Speichel, Ejakulat, Milch, Harn und Faeces (Wills et al., 1997b; Senn et al., 1998). Um eine Virusübertragung zu

erreichen, ist in der Regel ein enger Tierkontakt erforderlich (Albina et al., 1994; Wills et al., 1997a, Torremorell et al., 1997).

Für die Erregereinschleppung in einen Bestand stellt insbesondere der Zukauf infizierter Schweine ein hohes Risiko dar (Kramer et al., 1993; Mortensen et al., 2002). Auch die Impfung von Schweinen mit attenuiertem Lebendimpfstoff (Bøtner et al., 1997; Storgaard et al., 1999; Nielsen et al., 2002), sowie der Einsatz von kontaminiertem Sperma kann zur Einschleppung des Virus in einen Bestand führen (Christopher-Hennings et al., 1995; Gradil et al., 1996; Mortensen et al., 2002). Da eine hohe Dichte an Schweinen und Schweinehaltungen die Verbreitung fördert (Geue, 1995; Mortensen et al., 2002), ist die Infektion in Regionen mit intensiver Schweinehaltung inzwischen endemisch (Kramer et al., 1993; Wensvoort et al., 1993; Geue, 1995; Loeffen, 1996). In solchen Gebieten wird eine Weiterverbreitung des Erregers mit dem Wind über Distanzen bis zu 3 km angenommen (Komijn, 1991; Blaha & Büker, 1995; Lager & Mengeling, 2000). Die Virusübertragung durch Aerosole tritt aufgrund der vorherrschenden klimatischen Bedingungen verstärkt in der Winterzeit auf (Komijn, 1991), und ist vermutlich von der Virulenz des *PRRSV*-Isolates abhängig (Cho et al., 2006, 2007).

Im Sinne von biologischen Vektoren kommen Stockenten (Zimmerman et al., 1997a), Hausfliegen und Mosquitos (Otake et al., 2002b, 2003, 2004) als Überträger des *PRRSV* auf naive Schweine in Frage. Schurrer et al. (2004) fanden unter kontrollierten Feldbedingungen heraus, dass ein Transport von infektiösem *PRRSV* durch infizierte Fliegen über eine Distanz von bis zu 2,4 km möglich ist. Weitere mechanische Vektoren, die zur Verbreitung des *PRRSV* beitragen können, sind Transportfahrzeuge (Dee et al., 2004), kontaminierte Nadeln und Arbeitsgegenstände wie Stiefel und Overalls (Otake et al., 2002a). In Studien bezüglich der Überlebensdauer von *PRRSV* in der Umgebung von Schweinen konnten das Virus in Trinkwasser bis zu elf, in Gülle bis zu sieben Tagen nachgewiesen werden (Pirtle & Beran, 1996; Dee et al., 2005).

Während das Virus in manchen Herden kontinuierlich zirkuliert, treten in andere Herden aufeinanderfolgende Infektionswellen auf (Dee & Joo, 1994; Stevenson et al., 1993). Stevenson et al. (1993) konnten an endemisch infizierten Beständen zeigen, dass durch den Kontakt zwischen Absetzern (mit Verlust der maternalen Antikörper) und älteren Mastschweinen die Übertragung des *PRRSV* über 2,5 Jahre aufrechterhalten werden konnte. Durch eine spontane Unterbrechung der Infektionskette besteht jedoch auch die Möglichkeit, dass infizierte Herden nach einiger Zeit wieder seronegativ werden (Freese & Joo, 1994; McCaw & Henry 1995; Nodelijk et al, 1998). Die Dauer der *PRRSV*-Persistenz bei experimentell infizierten Tieren wurde in verschiedenen Studien untersucht, wobei ein Virusnachweis maximal bis zum 157. Tag p.i. möglich war (Albina et al., 1994; Bierk et al., 2001; Batista et al., 2002; Horter et al., 2002). In einer Studie von Benfield et al. (1997) führte die intrauterine Infektion der Feten zwischen dem 85. und 90. Trächtigkeitstag zu einer kongenitalen Infektion der Nachkommen mit dem Nachweis von Virus-RNA bis zum 210. Tag p.n..

2.1.2 *Influenzavirus A*

2.1.2.1 Erregermerkmale

Das *porcine Influenzavirus A* wird dem Genus *Influenzavirus A* der Familie der *Orthomyxoviridae* zugeordnet. Es handelt sich um ein RNA-Virus, dessen Genom in acht Segmente unterteilt ist. Die zwei viralen Glykoproteine *Hämagglutinin* und *Neuraminidase* stellen die hauptsächlichen Oberflächenantigene des Virus dar, nach denen die heutige Einteilung der Influenza-A-Viren erfolgt (Palese & Young, 1982). Der Erreger ist weltweit verbreitet. Wasser- und Seevögel werden als natürliches Reservoir der verschiedenen Subtypen angesehen (Webster et al., 1992). Das Virus infiziert eine Vielzahl von Spezies, darunter auch den Menschen. Obwohl es eher wirtsspezifisch ist, kann durch Mutationen und Reassortment des genetischen Materials eine Überschreitung von Speziesgrenzen vorkommen (Schultz et al., 1991; Brown et al., 1998).

Charakteristisch für die klassische Schweineinfluenza, die sich bis heute im Wesentlichen nicht verändert hat, ist ein plötzlicher Krankheitsbeginn nach einer Inkubationszeit von zwei bis vier Tagen mit Symptomen wie ausgeprägte Apathie, Inappetenz bis hin zu Anorexie, hohes Fieber, schwere in- und exspiratorische Dyspnoe sowie trockener Husten. Rhinitiden und Konjunktivitiden sind in den meisten Fällen vorhanden. Ohne Komplikationen durch zusätzliche bakterielle Infektionen, heilt die Erkrankung nach drei bis sechs Tagen klinisch aus. Wird der Erreger in eine vollempfängliche Herde eingeschleppt, kann die Morbidität 100% betragen. Die Mortalität hingegen ist in der Regel niedrig und bleibt unter 2% (Ottis et al., 1981; Witte et al., 1981). Nicht selten ist das *Influenzavirus A* aber auch in Herden vorhanden, ohne dass bei den Schweinen klinische Symptome erkennbar sind (Andreasen et al., 2000; Regula et al., 2000).

Neutralisierende Antikörper sind beim Schwein ab dem siebten Tag p.i. über einen Zeitraum von mindestens fünf bis sechs Monaten, teilweise bis zu 18 Monaten, nachweisbar (Easterday, 1972; Charley, 1977; Brown et al., 1993). Eine belastbare Immunität besteht über einen Zeitraum von etwa drei bis maximal acht Monaten und ist streng subtypspezifisch (Easterday, 1972; Haesebrouck et al., 1985). Für Sauen, die sich ab dem neunten Lebensmonat infizierten, konnte sogar ein lebenslanger Schutz nachgewiesen werden (Menšík, 1966). In der Regel erfolgt durch die Immunreaktion des Wirtes innerhalb von ein bis zwei Wochen eine vollständige Eliminierung des Virus, so dass die Virusausscheidung auf die akute Fieberphase beschränkt bleibt. In Einzelfällen konnte aber auch eine Ausscheidung bis zum 42. Tag p.i. nachgewiesen werden (Choi et al., 2004).

Die über das Kolostrum immuner Sauen aufgenommenen Antikörper sind je nach Antikörpertiter der Sau zwei bis maximal sechs Monate nachweisbar (Menšík, 1966; Easterday, 1971).

2.1.2.2 Epidemiologie

Neben den Subtypen H1N1 und H3N2, die seit Mitte der 70er Jahre diesen Jahrhunderts vorwiegend in den europäischen Schweinepopulationen zirkulieren und dort Krankheitsausbrüche verursachen (Nardelli et al., 1978; Tumova et al., 1980; Pensaert et al., 1981; Ottis et al., 1982; Castrucci et al., 1993; Campitelli et al., 1997), gewinnt in Europa auch der Subtyp H1N2 zunehmend an Bedeutung (Gourreau et al., 1994; Brown et al., 1998; Brown, 2000; Van Reeth et al., 2000; Marozin et al., 2002).

Die Infektion mit Schweineinfluenzaviren ist in der Regel auf den Respirationstrakt beschränkt und erfolgt durch die nasale oder orale Aufnahme von Viruspartikeln über Aerosole oder Sekrete des Respirationstraktes (Bachmann, 1985). In mehreren Studien konnte gezeigt werden, dass ein großer Anteil der Infektionen in der Mast erfolgt, wenn die Ferkel wenigstens zehn Wochen alt sind (Elbers et al., 1990; Groschup et al., 1993; Loeffen et al., 1999; Maes et al., 1999; Loeffen et al., 2003).

Meist kommt die Schweineinfluenza als endemische Erkrankung vor. Regelrechte Ausbrüche treten v.a. in immunologisch naiven Herden oder in Verbindung mit schlechten Haltungsbedingungen, Sekundärinfektionen oder kaltem Wetter auf. Innerhalb der Schweinepopulation erfolgt die Verbreitung des Erregers hauptsächlich durch den Tierverkehr und die Einführung von infizierten Schweinen in empfängliche Herden. Ist eine Herde einmal infiziert, hält sich das Virus durch die kontinuierliche Produktion von empfänglichen und die Einführung von immunologisch naiven Schweinen. Enger Tierkontakt, Stressfaktoren, verschiedene Wetter- und Umweltbedingungen können die Ausbreitung von Influenzaviren fördern (Brown, 2000). Obwohl klinische Influenzaausbrüche v.a. in den Herbst- und Wintermonaten auftreten, ist eine Virusisolierung das ganze Jahr über möglich (Nakamura et al., 1972). Eine Übertragung mit dem Wind kann über eine Distanz von vier Kilometern stattfinden (Tofts, 1986). So kann es in Regionen mit hoher Schweinedichte durch Windverschleppung zu explosionsartigen Epidemien kommen (Gourreau et al., 1980; Vandeputte et al., 1980). Die Seroprävalenz von Antikörpern gegen das *Influenzavirus A*

ist in solchen Regionen höher als in Gebieten mit geringerer Schweinedichte (Havenith, 1993).

2.1.3 *Mycoplasma hyopneumoniae*

2.1.3.1 Erregermerkmale

Mykoplasmen werden taxonomisch in die Klasse der *Mollicutes* der Ordnung der *Mycoplasmataceae* eingeordnet (Selbitz, 2002). Sie sind mit einem Durchmesser von 0,1-0,3 µm die kleinsten zellwandlosen Mikroorganismen, die sich außerhalb von Zellen selbständig vermehren können (Adegboye, 1978). *M. hyopneumoniae* gilt als primäre Ursache der Enzootischen Pneumonie (Goodwin et al., 1965; Mare & Switzer, 1965) und ist weltweit einer der häufigsten und ökonomisch wichtigsten Krankheitserreger in der Schweinehaltung (Ross, 1999). Für Deutschland konnte gezeigt werden, dass ein großer Anteil der Schweinebestände mit *M. hyopneumoniae* infiziert ist (Berner, 1995; Pfützner & Blaha, 1995; Horst et al., 1997).

Untersuchungen zur Pathogenität von *M. hyopneumoniae* belegen eine recht hohe Variation hinsichtlich der Virulenz einzelner Feldisolate (Ross, 1996; Vicca et al., 2002, 2003), die vermutlich mit der Fähigkeit zur Adhärenz zusammen hängt (Minion et al., 2000). Die Anheftung von *M. hyopneumoniae* an die Zielzellen gilt als Voraussetzung für die Entfaltung des zytopathischen Effektes, welcher zur Beeinträchtigung der mukoziliären Clearance führt und eine Ansiedlung weiterer pneumopathogener Erreger fördert (Howard & Taylor, 1985; Done, 1996).

Das charakteristische Bild einer *M. hyopneumoniae*-Infektion zeichnet sich durch einen trockenen, chronischen Husten aus, der 10 bis 16 Tage p.i. einsetzt und zusammen mit geringgradigem Fieber und Inappetenz auftreten kann (Kobisch et al., 1993; Done, 1996; Sørensen et al., 1997; Ross, 1999). Der Husten geht mit einer Wachstumsverzögerung einher und ist durch eine hohe Morbidität von 30 bis 80 %

gekennzeichnet. Die Letalität hingegen ist gering. Bei einer Ko-Infektion mit weiteren bakteriellen Erregern wie *Pasteurella multocida*, *Bordetella bronchiseptica*, *Arcanobacterium pyogenes*, *Streptococcus*- und *Staphylococcus*-Spezies oder auch Wanderlarven von *Ascaris suum* ist häufig ein größerer Anteil der Lunge betroffen und die klinische Erkrankung verläuft schwerer (Simecka et al., 1992; Maes et al., 1996). In Untersuchungen zur Infektionsdauer an experimentell infizierten Tieren gelang der Nachweis von *M. hyopneumoniae* mittels PCR bei Sørensen et al. (1997) bis zum 85. und bei Fano et al. (2004) bei allen infizierten Schweinen bis zum 185. Tag p.i..

Die Ausbildung von Serumantikörpern lässt sich frühestens etwa sieben Tage p.i. mit dem Auftreten von Immunglobulinen der Klasse M nachweisen. IgG hingegen ist erstmals etwa 10 bis 14 Tage p.i. und IgA ab dem 21. Tag p.i. nachweisbar (Piffer & Ross, 1984; Sheldrake & Romalis, 1992; Strasser et al., 1992). Während eine klinisch manifeste Infektion mit *M. hyopneumoniae* eine lang andauernde, belastbare Immunität bewirkt (Kobisch et al., 1993), kann die immunologische Reaktion bei einer subklinischen Mykoplasmen-Infektion mit nur geringen pathologischen Lungenveränderungen ausbleiben (Howard & Taylor, 1985). Nach Done (1996) bewirkt die Immunreaktion zwar keine vollständige Eliminierung des Erregers, jedoch eine deutliche Reduktion der Erregerausscheidung.

Durch das Kolostrum erhalten die neugeborenen Ferkel, zumindest bis zu einem Alter von zwei Wochen, einen vollständigen passiven Schutz gegenüber einer *M. hyopneumoniae*-Infektion (Wallgren et al., 1998; Rautiainen & Wallgren, 2001).

2.1.3.2 Epidemiologie

Die Infektion erfolgt entweder über den Nasenkontakt mit infizierten Tieren oder als Tröpfcheninfektion über Aerosole. Die Inkubationszeit beträgt nach natürlicher Infektion 10 bis 16 Tage, maximal drei bis fünf Monaten (Betts, 1952; Goodwin, 1984). Dabei scheint die Dauer der Inkubationszeit abhängig von der Infektionsdosis und den Haltungsbedingungen zu sein (Done, 1996).

Von Bedeutung für die Erregereinschleppung in einen Bestand sind v.a. die Verbreitung des Erregers mit dem Wind über eine Distanz bis zu 3,2 km, der Zukauf subklinisch infizierter Schweine und Tiertransporte, insbesondere von Schlachtschweinen (Stärk et al., 1992, 1998; Maes et al., 2000; Hege et al., 2002). Hervorgerufen durch den Transport, Stall- und Futterwechsel kann eine Schwächung des Immunsystems zu einer erhöhte Erregerausscheidung führen. Das Ausmaß der Erregerverbreitung ist zudem abhängig von den verschiedenen Managementsystemen, dem Stallklima und einer hohen Schweinedichte im Bestand bzw. in der Region (Stärk et al., 1992; Done, 1996; Ross, 1999). In Betrieben mit guten Umweltbedingungen verläuft die Infektion mit *M. hyopneumoniae* oft subklinisch, oder Infektion und klinische Erkrankung erfolgen erst spät in der Mast (Maes et al., 2000). Die Größe und Entfernung des nächsten infizierten Nachbarbetriebes hat bedeutenden Einfluss auf das Infektionsrisiko (Stärk et al., 1992; Done, 1996), das auch durch das Mischen von Tieren aus verschiedenen Herkünften und das Nicht-Desinfizieren von Transportfahrzeugen steigt (Hege et al., 2002). Aufgrund klimatischer Faktoren, die eine Luftübertragung von *M. hyopneumoniae* begünstigen, wird zwischen November und März eine saisonale Häufung von Erkrankungsfällen beobachtet (Laube, 1996).

Verschiedene serologische Verlaufsuntersuchungen weisen darauf hin, dass eine Infektion weniger in der Säuge- und Absetzphase, sondern während der Mast erfolgt (Wallgren et al., 1993; Morris et al., 1995; Grosse Beilage, 1999; Walter et al., 1999; Rautiainen et al., 2000). Dabei findet die Ausbreitung des Erregers innerhalb eines Bestandes nur sehr langsam und größten Teils über direkten Tierkontakt statt (Goodwin, 1972; Morris et al., 1995). Infizierte Tiere können den Erreger über Wochen ausscheiden (Ruiz & Pijoan, 2002).

2.1.4 *Actinobacillus pleuropneumoniae*

2.1.4.1 Erregermerkmale

A. pleuropneumoniae ist ein gram-negatives, nicht bewegliches, bekapseltes Stäbchen aus der Familie der *Pasteurellaceae*. Aufgrund seines NAD (Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid) – abhängigen bzw. – unabhängigen Wachstums erfolgt eine Einteilung des Erregers in den Biotyp 1 (NAD-abhängig) und den Biotyp 2 (NAD-unabhängig) (Pohl et al., 1983). Obwohl *A. pleuropneumoniae* weltweit vorkommt, ist die geographische Verbreitung der einzelnen Serotypen in den verschiedenen Ländern und Kontinenten unterschiedlich (Mittal et al., 1992; Taylor, 1999).

A. pleuropneumoniae kann neben anderen Virulenzfaktoren vier RTX-Toxine (Apx I-IV) produzieren (Frey et al., 1993; Schaller et al., 1999). Unterschiede in der Virulenz verschiedener Subtypen sind teilweise auf die unterschiedlichen Kombinationen dieser Toxine zurückzuführen, wobei die virulentesten Stämme Apx I und II produzieren (Frey, 1995).

Die Ausprägung der klinischen Symptomatik ist neben der Virulenz des vorliegenden Stammes und der Infektionsdosis auch vom Alter des Wirtes, seinem Immunstatus und verschiedenen Umgebungsfaktoren abhängig. Dabei kann die Erkrankung perakut, akut, chronisch oder auch klinisch inapparent verlaufen. Wird der Erreger erstmalig in eine Herde eingeschleppt, kommt es bevorzugt bei Saugferkeln zur Ausbildung der perakuten septikämischen Form mit einer Morbidität und Mortalität von bis zu 100% (Nielsen, 1975). Obwohl ältere Schweine an allen Verlaufsformen erkranken können, stehen hier besonders klinisch inapparente und chronische Krankheitsverläufe im Vordergrund (Nielsen, 1970).

Der IgG Anstieg im Serum konnte mittels KBR (Komplemen-Bindungs-Reaktion) ab zwei Wochen p.i. über einen Zeitraum von mehreren Monaten nachgewiesen werden

(Nielsen, 1988). Man geht davon aus, dass das in der Mukosa des Respirationstraktes produzierte sekretorische IgA als Ausdruck der lokalen Immunität eine signifikante Rolle für den vollständigen Schutz gegenüber einer Erkrankung spielt (Hensel et al., 2000; Bossé et al., 2002). Im Anschluss an eine Infektion mit *A. pleuropneumoniae* entwickelt sich eine belastungsfähige Immunität, die einen zuverlässigen Schutz vor einer erneuten Infektion mit dem homologen Serotyp vermittelt (Crujisen et al., 1994; Furesz et al., 1997). Da die Immunreaktion gewöhnlich nicht zur Eliminierung des Erregers führt, bleiben Schweine, die eine Infektion überleben, dauerhaft Keimträger. Der Erregernachweis ist bei diesen Tieren in der Regel aus Tonsillen und nekrotischem Lungengewebe möglich (Henning, 1997; Taylor, 1999). Subklinische Infektionen des oberen Respirationstraktes gehen zudem nicht immer mit einer Produktion von Antikörpern einher (Kume et al., 1984; Sidibé et al., 1993; Chiers et al., 2002).

Ferkel immuner Sauen erhalten durch die Übertragung von kolostralen Antikörpern (v.a. IgG) eine passive Immunität, die sie in den ersten Lebenstagen vor einer Infektion mit *A. pleuropneumoniae* schützt und etwa bis zur achten Lebenswoche einen Schutz vor einer Erkrankung bietet (Bachmann, 1972; Nielsen, 1975; Krejci et al., 2005).

2.1.4.2 Epidemiologie

Der Erreger ist hochkontagiös und wird v.a. durch direkten Kontakt, über kurze Entfernungen auch aerogen, übertragen. Die Inkubationszeit ist abhängig von der Virulenz des Erregers und liegt bei wenigen Stunden bis zu einigen Tagen (Taylor, 1999).

Zwischen den Herden gilt der Zukauf latent infizierter oder klinisch rekonvaleszenter Tiere als wichtigster Übertragungsweg von *A. pleuropneumoniae* (Bachmann, 1972; Rosendal & Mitchell, 1983). Auch vakzinierte Schweine kommen als Träger und Ausscheider des Erregers in Frage (Van Overbeke et al., 2001). Ein erhöhtes Risiko für durch *A. pleuropneumoniae* verursachte Krankheitsausbrüche besteht nach dem Mischen von Mastläufern aus unterschiedlichen Herkunftsbetrieben, bei Überbesatz, bei

starken Schwankungen der Stalltemperaturen sowie bei unzureichenden Lüftungsraten (Rosendal & Mitchell, 1983; Maes et al., 2001). Dies wurde durch verschiedene Untersuchungen bestätigt, nach denen die Krankheit in endemisch verseuchten Herden hauptsächlich während der Mast auftritt (Cruijisen et al., 1995; Maes et al., 2001; Chiers et al., 2002).

Vergleichende serologische Untersuchungen in den Niederlanden ergaben, dass *A. pleuropneumoniae* in Gebieten mit hoher Schweinedichte signifikant weiter verbreitet ist als in Regionen mit niedriger Schweinedichte (Elbers et al., 1990). Eine aerogene Übertragung zwischen benachbarten Herden konnte zwar anhand von Felduntersuchungen als mögliche Verbreitungsursache identifiziert werden, scheint jedoch nur selten und nur über kurze Entfernungen zu erfolgen. Ebenfalls von Bedeutung für die Erregerverschleppung sind verschmutzte Bekleidung des betreuenden Personals und unzureichend gereinigte Transportfahrzeuge (Fussing et al., 1998). Eine Häufung von Krankheitsausbrüchen in den Wintermonaten und den Übergangsjahreszeiten lässt einen jahreszeitlichen Einfluss auf das Infektionsgeschehen vermuten (Cromwijk et al., 1992).

2.1.5 *Haemophilus parasuis*

2.1.5.1 Erregermerkmale

Haemophilus parasuis ist der Erreger der Glässerschen Krankheit (Glässer's disease), auch Porcine Polyserositis und Arthritis genannt. Erstmals wurde die Erkrankung von Glässer (1910) als fibrinöse Pleuro-Perikardio-Peritonitis beschrieben. Bei den vom Schwein isolierten *H. parasuis*-Arten handelt es sich um gram-negative, meist kokkoide, unbewegliche Stäbchen (Gunnarson, 1980). Seit einigen Jahren wird weltweit eine deutliche Zunahme der Glässerschen Krankheit beobachtet (López et al., 2004; Müller et al., 2004; Oliveira & Pijoan, 2004), was auf die intensiven Haltungsbedingungen, das Zusammenbringen von Aufzuchtferkeln und Mastschweinen aus verschiedenen Herkunftsn sowie ein frühes Absetzen der Ferkel zurückgeführt wurde. Darüber hinaus

scheinen weitere Erreger, wie das *PRRSV* oder das Porcine Circovirus Typ 2 (*PCV 2*), als Ko-Faktoren eine Rolle zu spielen (Oliveira & Pijoan, 2002, 2004).

H. parasuis zählt gleichzeitig zum physiologischen Keimspektrum des oberen Respirationstraktes (Oliveira & Pijoan, 2004). Das Bakterium kann sowohl bei klinisch auffälligen als auch bei klinisch unauffälligen Schweinen in der bronchioalveolären Lavage bakteriologisch nachgewiesen werden (Palzer et al., 2005). Und bei neugeborenen Ferkeln ist *H. parasuis* bereits wenige Stunden nach der Geburt im oberen Respirationstrakt nachweisbar (Pijoan & Oliveira, 2003).

Der Ausbildungsgrad der klinischen Symptome im Rahmen einer *H. parasuis*-Infektion sowie das Alter in dem sich die Tiere infizieren, hängt vom allgemeinen Gesundheitsstatus der Herde und von der Virulenz der beteiligten *H. parasuis*-Stämme ab (Oliveira et al., 2002). Bezüglich respiratorischer Erkrankungen beim Schwein ist die Rolle von *H. parasuis* bislang nicht eindeutig geklärt. Berichte über eine eitrige Rhinitis in Verbindung mit einer Schleimhautbesiedlung durch *H. parasuis* unterstreichen die mögliche Bedeutung des Erregers als prädisponierender Faktor für Infektionen mit anderen viralen und bakteriellen Erregern (Gois et al., 1983; Vahle et al., 1995, 1997). Obwohl das Bakterium bislang eher als opportunistischer Sekundärerreger angesehen wurde, weisen verschiedene Untersuchungen darauf hin, dass *H. parasuis* als Primärerreger einer fibrinös-eitrigen Bronchopneumonie in Frage kommen könnte (Pöhle et al., 1992; Barigazzi et al., 1994; Solano-Aguilar et al., 1999).

Maternale und natürliche Immunität sind kritische Faktoren in Bezug auf die Kontrolle des Krankheitsprozesses (Nielsen & Danielsen, 1975). Aufgrund der septikämischen Natur der Glässerschen Krankheit sind Antikörper wahrscheinlich der hauptsächliche schützende Mechanismus der Immunabwehr (Rapp-Gabrielson, 1999). Die über das Kolostrum vakzinierter Sauen auf die Ferkel übertragene passive Immunität ist serovarspezifisch (Rapp-Gabrielson et al., 1997). Maternale Antikörper gegen *H. parasuis* können bei Ferkeln noch zwischen der sechsten und achten Lebenswoche

nachgewiesen werden (Pijoan & Oliveira, 2003). Es konnte gezeigt werden, dass die Vakzination von Sauen gegen den Serotyp 5 bei deren Ferkeln zwar eine Kolonisation der Nasenschleimhaut mit *H. parasuis* nicht verhinderte, diese aber mehrheitlich gegen eine klinische Erkrankung schütze (Hoffmann & Bilkei, 2002). Die Ausbildung einer aktiven Immunität beginnt mit acht Wochen und ist mit zwölf Wochen nahezu vollständig vorhanden (Done, 1999).

2.1.5.2 Epidemiologie

Die Übertragung des Erregers erfolgt aerogen und auch über Sekrete des oberen Respirationstraktes. Die Inkubationszeit beträgt fünf bis sieben Tage (Baehler et al., 1974).

Obwohl die Glässersche Krankheit in allen Betriebsarten auftreten kann, sind Bestände mit hohem Gesundheitsstatus (High-health-status- oder SPF-Betriebe) oftmals stärker betroffen (Rapp-Gabrielson, 1999; Vos, 2004). Die Einschleppung des Erregers in eine naive Population kann zur systemischen Erkrankung mit hoher Morbidität und Mortalität führen, die Schweine aller Produktionsstufen betreffen kann (Rapp-Gabrielson, 1999). Als Risikofaktoren gelten Transporte, Zusammenbringen von Tieren aus unterschiedlichen Herkunftsbetrieben, Einstellung von Tieren aus *H. parasuis*-negativen Beständen, Fütterungswechsel, schlechtes Stallklima oder allgemeine Stresssituationen (Done, 1999).

Die vermehrte Isolierung des Erregers bei Pneumonien in den letzten Jahren wird mit der zunehmenden Prävalenz der Enzootischen Pneumonie und verschiedenen viralen respiratorischen Krankheitserregern, wie *PRRSV*, *Influenzavirus A* und dem *porcinen respiratorischen Coronavirus* in Verbindung gebracht (Rapp-Gabrielson, 1999). In Norddeutschland durchgeführte Untersuchungen bezüglich dem Vorkommen verschiedener Erreger bei Schweinen mit Lungenentzündungen führten zu einer Isolierung von *H. parasuis* aus 31,3 % der untersuchten Lungen, 67,5 % der

Bronchialtupfer, 54,0 % der Nasentupfer und 56,1 % der BALF der untersuchten Tiere (Nienhoff, 2005).

2.1.6 *Streptococcus suis*

2.1.6.1 Erregermerkmale

Streptococcus suis ist ein kokkoides, gram-positives, fakultativ anaerobes Bakterium, von dem insgesamt 35 Serotypen bekannt sind (Perch et al., 1983; Gottschalk et al., 1989, 1991a, b; Higgins et al., 1995). Die Serotypen 1 und 2 haben innerhalb der Gruppe der α -hämolisierenden Streptokokken die größte Bedeutung, wobei die Virulenz zwischen und innerhalb einzelner Serotypen sehr unterschiedlich sein kann (Sanford & Tilker, 1982). Im Rahmen der natürlichen Keimflora des Schweins findet man das Bakterium im oberen Respirationstrakt, insbesondere auf den Tonsillen und in der Nasenhöhle, sowie im Genital- und Verdauungstrakt (Devriese et al., 1991; Robertson et al., 1991; Hogg et al., 1996). Das breite Wirtsspektrum von *S. suis* umfasst neben verschiedenen Säugetierspezies und Vögeln auch den Menschen, weshalb der Erreger als Zoonoseerreger angesehen wird (Higgins & Gottschalk, 1999).

Die meisten Studien zur Pathogenese der *S. suis*-Infektion beziehen sich auf den Serotyp 2 und das Krankheitsbild der Meningitis. Die pathogene Bedeutung von *S. suis* für die Lunge ist bislang nicht eindeutig geklärt (Ganter & Amtsberg, 1996). α -hämolisierende Streptokokken konnten sowohl aus der BALF von klinisch auffälligen als auch klinisch unauffälligen Tieren häufig isoliert werden (Kipper, 1990; Hensel et al. 1994; Palzer et al., 2005). Markowska-Daniel et al. (2004) hingegen isolierten aus 43 % pathologisch veränderter Schweinelungen (Probenzahl n=538) *S. suis*, v.a. Typ 2, und messen dem Erreger daher in Polen eine zentrale Bedeutung für Lungenerkrankungen bei.

In Abhängigkeit von der Pathogenese der *S. suis*-Infektion können sich die klinischen Symptome zwischen einzelnen Herden unterscheiden. Neben respiratorischen Erkrankungen sind Arthritiden und Meningitiden häufig vorkommende Krankheitsbilder. Perakut erkrankte Tiere können auch ohne klinische Anzeichen innerhalb von Stunden versterben (Rachel et al., 1994; Higgins & Gottschalk, 1999; Pallarés et al., 2003).

Lungenveränderungen im Rahmen einer *S. suis*-Infektion sind häufig, unterscheiden sich jedoch von Fall zu Fall. Zu den möglichen Veränderungen zählen eine interstitielle, fibrinöse bis fibrinös-hämorrhagische Pneumonie, eine fibrinöse oder eitrige Bronchopneumonie sowie Bronchiolitis, Bronchitis, alveoläre Blutungen, lobuläre Verdichtungen, interlobuläre Emphyseme und eine fibrinös-eitrige Pleuritis (Koehne et al., 1979; Larson & Kott, 1983; Sanford & Rosendal, 1984; Clifton-Hadley & Alexander, 1991; Reams et al., 1995). Gewöhnlich werden aus *S. suis* infizierten Lungen gleichzeitig auch andere Bakterien isoliert; diese könnten für die Entwicklung einer fibrinös-hämorrhagischen Pneumonie sogar erforderlich sein (Reams et al., 1995).

Die Konzentration maternaler Antikörper variiert stark zwischen einzelnen Ferkeln einer Altersgruppe und sogar innerhalb eines Wurfes (Lapointe et al., 2002; Cloutier et al., 2003). Die Antikörpertiter erreichen zwischen der vierten und achten Lebenswoche die niedrigsten Werte, was häufig mit dem Auftreten klinischer Symptome einhergeht (Torremorell et al., 1998; Lapointe et al., 2002; Cloutier et al., 2003). Ein erneuter deutlicher Anstieg der Antikörpertiter im Sinne einer aktiven Immunantwort wurde im Anschluss an den Verlust der maternalen Immunität um die zehnte Lebenswoche herum beobachtet, wobei sich die produzierte Menge an Antikörpern zwischen den Schweinen stark unterschied (Lapointe et al., 2002; Cloutier et al., 2003). Verschiedene Studien kamen zu dem Ergebnis, dass die humorale Immunantwort gegenüber einer *S. suis*-Infektion oder gegenüber einer Vakzinierung häufig sehr unterschiedlich und nahezu unberechenbar verläuft (Blouin et al., 1994; del Campo Sepulveda et al., 1996; Lapointe et al., 2002).

2.1.6.2 Epidemiologie

S. suis Typ 2 wird gewöhnlich auf nasalem oder oralem Weg übertragen (Arends et al., 1984). Über das Muttertier können sich die Ferkel vor, während oder kurz nach der Geburt infizieren (Robertson & Blackmore, 1989). Obwohl die meisten Absatzferkel *S. suis*-Stämme auf ihrer Schleimhaut tragen, sind nur wenige dieser Stämme in der Lage eine Erkrankung auszulösen (Pijoan, 1996).

Krankheitsausbrüche in einer bislang nicht infizierten Herde sind meist mit dem Zukauf klinisch unauffälliger Keimträger verbunden (Windsor, 1977; Clifton-Hadley & Alexander, 1980). Es konnte gezeigt werden, dass *S. suis* Typ 2 in den Tonsillen subklinisch infizierter Tiere, trotz der Anwesenheit opsonisierender Antikörper sowie der Verabreichung von Antibiotika über das Futter, über ein Jahr persistieren kann (Clifton-Hadley & Alexander, 1980; Clifton-Hadley et al., 1984). Hohe Infektionsraten sind auf schlechte Hygiene und/oder gleichzeitige Erkrankung zurückzuführen (Heard, 1991). V.a. intensiv gehaltene Ferkel im Alter von 4 bis 12 Wochen sind von Krankheitsausbrüchen betroffen (Clifton-Hadley et al., 1984; Guise et al., 1985; Reams et al., 1993).

Stressfaktoren wie Überbesetzung, schlechte Belüftung, Mischen von Tieren unterschiedlicher Herkunft, Transporte, Impfungen, plötzliche Wetterumschwünge und gleichzeitige Erkrankungen prädisponieren Schweine für eine *S. suis*-Infektion (Sanford, 1989). Hausfliegen (Denholm et al., 1985; Enright et al., 1987) und Mäuse (Williams et al., 1988) scheinen als Vektoren von Bedeutung zu sein. Zudem konnte gezeigt werden, dass *S. suis* eine wichtige Kontaminante von Faeces, Staub und Wasser ist (Clifton-Hadley, 1986) und leicht durch kontaminierte Gegenstände übertragen werden kann (Dee & Corey, 1993). Robertson et al. (1991) konnten *S. suis* Typ 1 und 2 aus Futtertrögen von Ferkeln und Sauen isolieren.

2.1.7 *Pasteurella multocida* / *Bordetella bronchiseptica*

Nach der neuen Definition von De Jong (1999) wird die mit *P. multocida* bzw. *B. bronchiseptica* assoziierte Schnüffelkrankheit, die auch unter dem Namen Rhinitis Atrophicans oder Chronische Atrophische Rhinitis bekannt ist, in zwei Formen eingeteilt: die Nichtprogressive Atrophischen Rhinitis (NPAR), ausgelöst durch toxinbildende *B. bronchiseptica*-Stämme und die Progressive Atrophischen Rhinitis (PAR), ausgelöst durch toxinbildenden *P. multocida*-Stämme. Beide Pathogene bewirken eine Hypoplasie der Nasenmuscheln, eine Verformung des Gesichtsschädels und Nasenbluten, wobei dieses im Rahmen der NPAR selten vorkommt und für die PAR charakteristisch ist. Die Unterscheidung in progressiv und nichtprogressiv ergibt sich aus der Tatsache, dass die PRA weltweit mit starken ökonomischen Verlusten verbunden ist, während die NPAR zwar auch weit verbreitet ist, jedoch nur mit einer geringen, nicht signifikanten Wachstumsreduktion einhergeht. Die Schwere der Erkrankung ist dabei abhängig von der durch das Tier absorbierten Menge an Toxin (Van Diemen et al., 1994), wobei die Empfindlichkeit gegenüber einer bestimmten Toxindosis wiederum altersabhängig ist. Damit es zur Ausbildung klinischer Symptome kommt, müssen sich Ferkel in der Regel in den ersten Lebenswochen infizieren. Während toxinbildende Stämme von *P. multocida* auch bei Schweinen über drei Monaten noch eine schwere PAR auslösen können, sollen Nasenmuschelatrophen durch toxinbildende *B. bronchiseptica*-Stämme nur bis zu einem Alter von etwa sechs Wochen auftreten (De Jong, 1999).

2.1.7.1 Erregermerkmale

Bei *P. multocida* handelt es sich um ein gram-negatives, nicht bewegliches, kokkoides Stäbchen (De Jong, 1999). Das Bakterium kommt bei vielen Säugetieren und Vögeln im Rahmen der physiologischen Keimflora des oberen Respirationstraktes vor (Rimler & Rhoades, 1989). Verschiedene Studien an Schweinen haben gezeigt, dass die palatinalen Tonsillen eine wichtige Lokalisation hinsichtlich der Beherbergung des Erregers darstellen (Verma, 1988; Townsend et al., 2000). Townsend et al. (2000) konnten bei der Untersuchung von 36 Tonsillentupfern gesunder Schlachtschweine

mittels PCR in 16 Proben nicht toxinbildende *P. multocida*-Stämme vom Kapseltyp A und D nachweisen.

B. bronchiseptica ist ebenfalls ein gram-negatives, jedoch bewegliches, kokkoides Stäbchen, das häufig bei jungen Schweinen mit Rhinitis, Schweinen mit Pneumonien, aber auch von Tieren aus Herden ohne klinische Krankheitsanzeichen isoliert werden kann (De Jong, 1999). Der Erreger kolonisiert effektiv die Zilien tragende Mukosa des porcinen Respirationstraktes und kann in hoher Frequenz aus Tonsillen und auch aus dem Darminhalt infizierter Ferkel isoliert werden (Rutter, 1985).

P. multocida-Stämme lassen sich in toxinbildende und nicht toxinbildende Stämme unterteilen. Toxinbildende Stämme sind von zentraler Bedeutung für die Ätiologie der Progressiven Atrophischen Rhinitis und sind meistens vom Kapseltyp D (Eamens et al., 1988; Foged et al., 1988; Lariviere et al., 1992; Gardner et al., 1994; Davies et al., 2003), teilweise auch vom Kapseltyp A (Sakano et al., 1992; Fussing et al., 1999). Ihr Toxin, das Dermonekrotoxin, bewirkt eine progressive Verkürzung der Schnauze und Atrophie der Nasenmuscheln (Ilna & Zasukhin, 1975). Fast alle *B. bronchiseptica*-Stämme von Schweinen produzieren ebenfalls ein hitzelabiles und dermonekrotisches Toxin. Für beide Bakterien gilt, dass bakterielle und/oder virale Schädigungen der Schleimhaut sowie verschiedenen Umwelt-, Management- und Haltungsbedingungen das Wachstum und die Kolonisation und damit auch die Toxinproduktion beeinflussen (De Jong, 1999). Eine schwere mit Wachstumsverzögerung einhergehende PAR ist dabei eng mit intensiven Produktionsmethoden (hohe Bestandsdichte, kontinuierliche Belegung, schlechte Belüftung, Temperaturschwankungen, Staubentwicklung) und weitere Managementfaktoren assoziiert (Penny, 1977; Smith & Giles, 1980).

Klinische Symptome der PAR werden in Abhängigkeit von der Schwere des Ausbruchs in der Regel nicht vor der 4. bis 12. Lebenswoche beobachtet. Schwere Krankheitsverläufe sind durch ausgeprägtes Niesen, Nasenbluten, Auswurf von mukopurulentem, zum Teil mit nekrotischen Nasenmuschelanteilen durchsetztem Schleim, Sekrettrinnen am medialen Augenwinkel sowie auffällige

Knochendeformationen gekennzeichnet. Niesen und Schniefen bei Saugferkeln gelten für gewöhnlich als erste Anzeichen der Erkrankung. Diese Symptome einer akuten katarrhalischen Rhinitis kommen jedoch auch im Rahmen einer Infektion mit *B. bronchiseptica* oder anderen Erregern vor und sind somit nicht spezifisch. Bei einer *B. bronchiseptica*-Infektion können diese Krankheitserscheinungen bereits in der ersten Lebenswoche auftreten, meistens erkranken jedoch Ferkel im Alter von drei bis vier Wochen oder Absetzer. Im Rahmen unkomplizierter Infektionen mit *B. bronchiseptica* klingen die Symptome nach einigen Wochen ab (De Jong, 1999).

Ein weiteres durch *P. multocida* ausgelöstes Krankheitsbild ist die Pneumonische Pasteurellose. Sie wird als Sekundärinfektion im Anschluss an eine Infektion mit *M. hyopneumoniae* oder anderen bakteriellen oder viralen Erregern angesehen. Dementsprechend haben experimentelle Monoinfektionen bislang in nur wenigen Fällen pneumonische Lungenveränderungen bei Schweinen hervorgerufen (Schimmel, 1987; Bækbo, 1988; Pijoan & Fuentes, 1987; Hall et al., 1990). Die im Rahmen der pneumonischen Pasteurellose isolierten *P. multocida*-Stämme sind gewöhnlich nicht toxinbildend und vom Kapseltyp A (Pijoan et al., 1983, 1984; Zhao et al., 1992; Rubies et al., 2002; Davies et al., 2003) und nur selten toxinbildend und/oder vom Kapseltyp D (Pijoan et al., 1984; Choi et al., 2001; Rubies et al., 2002). Die klinische Ausprägung pneumonischer Veränderungen nach experimenteller Infektion ist abhängig von dem *P. multocida*-Stamm und dem Immunstatus der Tiere (Kielstein et al., 1977; Hall et al., 1990). Auch *B. bronchiseptica* kann eine schwere Bronchopneumonie auslösen, die speziell junge Ferkel in den ersten Lebenstagen betrifft und üblicherweise im Winter auftritt (Whittlestone, 1982). Zudem wird das Bakterium nicht selten aus pneumonisch veränderten Lungen älterer Mastschweine isoliert. *B. bronchiseptica* wird in diesem Zusammenhang ebenfalls als Sekundärerreger eingestuft (De Jong, 1999).

Untersuchungen von Schimmel (1992) zur Seroprävalenz von Antikörpern gegen *P. multocida* bei Sauen ergaben bei 60 % der untersuchten Altsauen und 33 % der untersuchten Jungsauen einen Nachweis von Antikörpern gegen den Kapseltyp A. Von den untersuchten Kolostrumseren waren bei den Altsauen 88 % und bei den Jungsauen

39 % seropositiv. Die vergleichsweise geringe Erkrankungsrate bei Ferkeln von Altsauen in den ersten Lebenswochen lässt eine Protektion der Nachkommen durch die maternalen Antikörper sowie eine geringere Erregerausscheidung durch die Muttersau vermuten. Die Autoren beschrieben einen Abfall der maternalen Antikörpertiter gegen den Kapseltyp A zwischen der zweiten und siebten Lebenswoche. Ein erneuter Anstieg der Titer, im Sinne einer aktiven Immunantwort gegenüber dem Erreger, konnte ab der 13. Lebenswoche beobachtet werden. Bei *B. bronchiseptica* scheint die Anwesenheit passiver Antikörper im Serum von Ferkeln von natürlich mit toxinbildenden Stämmen infizierten Sauen vor Veränderungen der Nasenmuscheln zu schützen (Rutter, 1981), nicht jedoch vor einer Infektion (Kobisch & Pennings, 1989; Voets, 1990).

2.1.7.2 Epidemiologie

Sowohl *P. multocida* als auch *B. bronchiseptica* sind weit verbreitet und kommen bei verschiedenen Tierarten als Pathogen vor (De Jong, 1999). Die Übertragung von *P. multocida* erfolgt in erster Linie durch den direkten Nasenkontakt zwischen infizierten und nicht infizierten Schweinen oder auch aerogen (Thomson et al., 1992; Zhao et al., 1992, 1993). Bei *B. bronchiseptica* findet die Erregerübertragung hauptsächlich über direkten Kontakt bzw. Tröpfcheninfektion statt. Zudem gilt bezüglich der Infektion von Ferkeln bei beiden Erregern die Muttersau als wichtige Infektionsquelle (De Jong, 1999).

In eine naive Herde erfolgt die Einschleppung beider Erreger meist durch den Zukauf klinisch gesunder Keimträger (De Jong, 1999). Aufgrund der weiten Verbreitung insbesondere von nicht toxinbildenden *P. multocida*, stehen klinisch manifeste Krankheitserscheinungen vermutlich eher im Zusammenhang mit einem erhöhten Keimdruck, z.B. infolge unzureichender Haltungsbedingungen, als im Zusammenhang mit der Neueinschleppung des Erregers in eine Herde (Kielstein, 1987). Cameron et al. (1980) stellten fest, dass zum Zeitpunkt der Schlachtung das Vorhandensein von Infektionen mit *B. bronchiseptica*, das Vorkommen von Atrophischer Rhinitis oder Nasenmuschelatrophy weit übersteigt.

2.2 Erregerinteraktionen

2.2.1 Interaktionen zwischen dem *PRRSV* und anderen respiratorischen Krankheitserregern

Die Erkenntnis, dass das *PRRSV* allein als relativ gering pathogen angesehen werden kann und die Tatsache, dass das Virus in Alveolarmakrophagen repliziert und so möglicherweise die Abwehr des Wirtes beeinträchtigt, hat zu Überlegungen und Untersuchungen zur Interaktion mit anderen Krankheitserregern angeregt.

Das Vorkommen von Interaktionen zwischen dem *PRRSV* und unterschiedlichen bakteriellen Erregern wurde von verschiedenen Forschergruppen untersucht. Während Galina et al. (1994) und Feng et al. (2001) bei Schweinen eine erhöhte Empfindlichkeit gegenüber *S. suis* Typ 2 nach vorangegangener *PRRSV*-Infektion feststellten, konnten Cooper et al. (1995) bei einer in gleicher Weise durchgeführten Doppelinfektionsstudie diese Beobachtung nicht bestätigen. Die Doppelinfektion mit dem *PRRSV* und *M. hyopneumoniae* führte im Vergleich zur Monoinfektion zur Zunahme der makroskopischen Lungenläsionen und der klinischen Symptome (Thacker et al., 1998, 1999; Thanawongnuwech et al., 2004). Andere Autoren konnten eine derartige Interaktion hingegen nicht beobachten (Albina et al., 1995; van Alstine et al., 1996). Des Weiteren scheint zwischen *B. bronchiseptica* und dem *PRRSV* ein Synergismus zu existieren, der für Erreger wie *A. pleuropneumoniae* (Pol et al., 1997), *P. multocida* (Cooper et al., 1995; Carvalho et al., 1997) oder *H. parasuis* (Cooper et al., 1995; Solano et al., 1997; Segalés et al., 1999) bislang nicht nachgewiesen werden konnte. Untersuchungen von Van Guchten et al. (2003) zur Interaktion zwischen *PRRSV* und Lipopolysacchariden lassen vermuten, dass gram-negative Erreger wie Pasteurellen, Bordetellen, *H. parasuis* und *A. pleuropneumoniae* eine *PRRSV* induzierte Pneumonie möglicherweise verstärken können. Eine mögliche Erklärung für diesen Zusammenhang ergibt sich daraus, dass *PRRSV* für die Virusreplikation aktivierte Makrophagen benötigt

(Thanawongnuwech et al., 2004) und Lipopolysaccharide die Eigenschaft haben, eine solche Makrophanenaktivierung zu bewirken.

Studien zur Interaktion zwischen dem *PRRSV* und anderen viralen Krankheitserregern erbrachten ebenfalls unterschiedliche Ergebnisse. Während Van Reeth et al. (1996, 2001) abhängig vom Zeitabstand zwischen der Doppelinfektion mit dem *PRRSV* und dem Subtyp H1N1 des *Influenzavirus A* einen signifikanten Effekt hinsichtlich der Verstärkung der klinischen Symptomatik und der Wachstumsverzögerung der Schweine feststellen konnten, ließen andere Doppelinfektionsversuche mit beiden Erregern keine gegenseitige Beeinflussung erkennen (Brun et al., 1994; Pol et al., 1997). Die Inokulation mit dem *PRV* sieben Tage (Shibata et al., 2003; Narita & Ishi, 2004) bzw. 14 Tage (Narita & Ishi, 2006) nach der Infektion mit dem *PRRSV* führte in den doppelt infizierten Versuchsgruppen in allen Fällen zur Verstärkung der klinischen Symptome und der pathologischen Veränderungen. Auch zwischen dem *PRRSV* und dem *PCV 2* wurde eine Erregerinteraktion nachgewiesen (Drolet et al., 2003; Pesch et al., 2003; Kyriakis, 2003). Die Untersuchungen von Gutiérrez-Martín et al. (2000) zur Prävalenz von Antikörpern gegen *A. pleuropneumoniae*, *PRRSV*, *PRV* und Influenzaviren ließen keine signifikante Assoziation zwischen dem Auftreten der einzelnen Antikörper erkennen. Klinische und serologische Verlaufsuntersuchungen bei Mastschweinen ergaben ebenfalls keine Hinweise auf eine Interaktion zwischen dem *PRRSV* einerseits und dem *Influenzavirus A*, *M. hyopneumoniae*, *P. multocida* oder *A. pleuropneumoniae* andererseits (Grosse Beilage, 1999).

2.2.2 Interaktionen zwischen verschiedenen respiratorischen Krankheitserregern außer *PRRSV*

Neben experimentellen Doppelinfektionen mit dem *PRRSV* und anderen porcinen Krankheitserregern wurden v.a. Untersuchungen zum Synergismus zwischen dem *Influenzavirus A* bzw. *M. hyopneumoniae* und weiteren respiratorischen Krankheitserregern durchgeführt.

In experimentellen Untersuchungen zur Interaktion zwischen dem *Influenzavirus A* und dem *PRC*-Virus führte die Doppelinfektion mit beiden Erregern zum verstärkten Auftreten von klinischen Krankheitserscheinungen und pneumonischen Lungenveränderungen (Lanza et al., 1992; Van Reeth & Pensaert, 1994). Eine Interaktion zwischen dem *Influenzavirus A* und *M. hyopneumoniae* (Grosse Beilage, 1999; Thacker et al., 2001; Yazawa et al., 2004), *P. multocida* (Grosse Beilage, 1999) sowie dem *PCV 2* (Harms et al., 2001) wurde ebenfalls beschrieben.

Die gegenseitige Beeinflussung von *M. hyopneumoniae* und *P. multocida* wurde anhand von Infektionsversuchen (Ciprian et al., 1988; Amass et al., 1994), Schlachtdorganuntersuchungen (Falk et al., 1990; Ose & Tonkinson, 1990) sowie klinischen und serologischen Verlaufsuntersuchungen (Grosse Beilage, 1999) nachgewiesen. Auch die Ko-Infektion mit *M. hyopneumoniae* einerseits und *A. pleuropneumoniae*, *H. parasuis* oder dem *PRV* andererseits führte zur Verstärkung des klinischen Krankheitsbildes und der pathologischen Lungenveränderungen (Yagihashi et al., 1984; Shibata et al., 1998a). Eine derartige Potenzierung wurde ebenfalls für die Doppelinfektion mit *M. hyopneumoniae* und dem *PCV 2* beschrieben (Opriessnig et al., 2004; Thacker, 2004).

Als weitere Erregerinteraktionen sind die synergistische Bedeutung einer vorangegangenen Infektion mit *B. bronchiseptica* auf die nasale Besiedlung mit *P. multocida* (Brockmeier et al., 2001) und *H. parasuis* (Brockmeier, 2004) zu nennen. Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass Schweine, die gleichzeitig mit dem *PRV* und *P. multocida* (Fuentes & Pijoan, 1987) oder *H. parasuis* (Narita et al., 1994) infiziert wurden, schwere Pneumonien entwickelten. Die Doppelinfektion mit dem *PRV* und *S. suis* (Iglesias et al., 1992) bzw. *A. pleuropneumoniae* (Sakano et al., 1993) führte im Vergleich zu den monoinfizierten Gruppen zur Verstärkung der klinischen Symptome und Zunahme der pathologischen Veränderungen.

2.3 Das Wildschwein als Erregerreservoir

2.3.1 Sozialstruktur und Populationsdichte als wichtige Einflussfaktoren für die Verbreitung von Krankheitserregern

Die Sozialstruktur der Wildschweine besteht grundlegend aus einer Gruppe verwandter subadulter (1-2 Jahre/Überläufer) und adulter Bachen (> 2Jahre) und deren Frischlingen (< 1 Jahr). Diese soziale Gruppe wird auch als Rotte bezeichnet. Nach Vollendung des ersten Lebensjahres verbleiben die Überläuferbachen meist für ein weiteres Jahr in ihrer Herde oder verlassen diese, wenn die adulten Bachen erneut Frischlinge bekommen. Zusammen mit anderen Überläuferbachen der ursprünglichen Rotte bilden sie eine neue soziale Gruppe, oder kehren im Herbst zusammen mit ihren neugeborenen Frischlingen zur ursprünglichen Rotte zurück (Dardallion, 1988). Überläuferkeiler verlassen die ursprüngliche Herde in der Regel wenn die adulten Bachen die nächste Frischlingsgeneration zur Welt bringen, bleiben aber bis zum Beginn der Jagdsaison im Herbst mit dieser in Kontakt. Danach beginnt ihre Verbreitung über Distanzen von teilweise mehr als 15 km (Baubet et al., 1998). Während adulte Keiler als Einzelgänger bezeichnet werden können und eher sesshaft sind, finden sich Überläuferkeiler häufig zu kleineren Gruppen zusammen (Fernandez-Llario, Carranza & Hidalgo de Trucios, 1996). Nur zur Rauschzeit im Herbst gesellen sich die Keiler zu den weiblichen Gruppen zur Paarung hinzu.

Während ein Revier im Sommer typischerweise ca. 500 bis 1000 ha umfasst, können in der Jagdsaison durch Abwanderung in Gebiete mit geringerem Jagddruck Distanzen von 5-10 km zurückgelegt werden. Sind die jüngeren Tiere einer Herde auf sich allein gestellt, z.B. durch Verlust der Leitbache und anderer adulter Bachen, sind Herdenbewegungen über Distanzen bis zu 50 km möglich. Das Zurücklegen weiter Strecken stellt jedoch eher eine Ausnahme dar, und liegt für weibliche Tiere bei maximal 20 km, für männliche Tiere bei maximal 100 km (Truvé & Lemel, 2003).

Die Sozialstruktur von Wildschweinpopulationen kann die Ausbreitung von Krankheiten begünstigen. Zur Erregerübertragung ist oft nur ein kurzer Kontakt nötig, der innerhalb einer sozialen Gruppe, ebenso wie beim Zusammentreffen verschiedener Gruppen an künstlichen Futter- und Wasserstellen, sehr hoch ist (Vicente et al., 2004, 2005). Ein weiterer Aspekt ist die gesteigerte Reproduktionsrate nach dem Zusammenbruch einer Population (Okarma et al., 1995; Jedrzejewska et al., 1997; Massei et al., 1997) oder bei großem Futterangebot in Mastjahren bzw. bei künstlicher Fütterung (Bieber & Ruf, 2005), die zum raschen Aufbau einer neuen empfänglichen Generation führt. Andererseits verläuft selbst KSP selbstbegrenzend, wenn eine kritische Populationsdichte nicht überschritten wird (Brunner et al., 2004). Hinsichtlich der Populationsdichte von Wildschweinen innerhalb Europas hat seit 1950 sowohl die Anzahl als auch die Verbreitung der Wildschweine stark zugenommen (Bieber & Ruf, 2005). Allein Frankreich, Deutschland und Italien beherbergen hunderttausende von Wildschweinen (Saez- Royuela & Telleria, 1986; Artois et al., 2002). Dabei kann die Populationsdichte je nach Lebensraum, Jagdmanagement, Bestandsdichte nach dem Frischen und der Verfügbarkeit von hoch energetischem Futter oder auch Wasser sowohl räumlich als auch zeitlich stark variieren (Massei, Genov & Staines, 1996; Gortázar et al., 2006).

Im Allgemeinen geht man davon aus, dass eine große Population zu einem lang anhaltenden Seuchengeschehen beiträgt, weil eine längere Zeit für die komplette Durchseuchung des gesamten Tierbestandes benötigt wird (Mollison & Levin, 1995; Hudson et al., 2002). Wenn der Landschaftsraum groß ist oder sich die Krankheit nur langsam verbreitet, kann hinter der ersten Epidemiewelle bereits eine neue empfängliche Generation heranwachsen und eine zweite, aufgrund immuner Alttiere jedoch schwächere Infektionswelle auftreten (Swington et al., 2002). In Bezug auf die Klassische Schweinepest wurden derartig wellenförmige Verläufe während einer Epidemie in Frankreich beobachtet (Laddomada, 2000). Unterschiede in der Populationsdichte sind möglicherweise ein Hauptargument für die Erklärung unterschiedlicher Epidemieverläufe. Während unterhalb einer kritischen Wildschweindichte der Kontakt zwischen infizierten und empfänglichen Tieren zu gering

ist und eine Infektion selbstlimitierend verläuft (Brunner et al., 2004), gewährleistet eine hohe Wildschweindichte die Aufrechterhaltung der Infektionskette (Kern et al., 1999; Rossi et al., 2005a, b). Zudem nimmt mit steigender Populationsdichte des Wirts auch die Virulenz von Krankheitserregern zu (Ewald, 1993).

2.3.2 Die Epidemiologie der Virusübertragung am Beispiel der Klassischen Schweinepest

Die Klassische Schweinepest (KSP) wird durch ein *Pestivirus* verursacht, das sowohl Haus- als auch Wildschweine (*Sus Scrofa*) infiziert (Moennig et al., 1999). Der Erreger hat noch mehr an wirtschaftlicher Bedeutung zugenommen, seitdem er in einigen Wildschweinpopulationen Europas endemisch geworden ist (Kramer-Schadt et al., 2007). Während die Infektion in manchen Populationen selbstlimitierend verläuft (Ferrari et al., 1998; Fritzemeier et al., 1998), zirkuliert das Virus in anderen Herden jahrelang (Laddomada et al., 1994; Fritzemeier et al., 1998; Kern et al., 1999).

Die Rolle des Wildschweins als Virusreservoir und mögliche Infektionsquelle für Hausschweine ist gut beschrieben. So konnten in Deutschland bis zu 60 % aller KSP-Ausbrüche bei Hausschweinen auf infizierte Wildschweine oder infiziertes Wildschweinefleisch zurückgeführt werden. Warum das *KSP-Virus* in einigen Wildschweinpopulationen persistiert, ist bislang weitgehend unklar (Fritzemeier et al., 2000). Jedoch wird im Rahmen natürlicher Infektionen die Persistenz eines Erregers im allgemeinen durch die Fähigkeit der Überbrückung der Zeitspanne erklärt, die zum Nachrücken empfänglicher Tieren durch Geburt, Zuwanderung oder Verlust der Immunität benötigt wird.

Infizierte, Virus ausscheidende Hausschweine gelten als bedeutendste Quelle für die Virusverbreitung. Die Erregerübertragung auf das Schwarzwild kann durch Kontakt mit infizierten Hausschweinen, infizierten Kadavern und Stallabprodukten (Gülle, Mist, Stallabgase), sowie durch Schlacht- und Küchenabfällen erfolgen. Auch Aas fressende

Tiere können zur Verbreitung beitragen. Auf der anderen Seite stellt infiziertes Schwarzwild ein temporäres Virusreservoir und damit ein potentielles Risiko für Hausschweinbestände dar (Dedek, 1994). Die Übertragung des *KSP-Virus* innerhalb einer Wildschweinrotte erfolgt durch direkten und indirekten Kontakt, insbesondere unter Frischlingen. Zwischen den Rotten wird das Virus durch Kontakte während der Rauschzeit, durch Kontakt mit umher streifenden Keilern sowie durch die Formung neuer sozialer Gruppen verbreitet (Kaden, 1999). Da der Erreger unter bestimmten Bedingungen mehrere Tage bis zu Wochen in der Umgebung überleben kann, trägt auch der Kontakt mit kontaminierten Exkreten und Kadavern zur Übertragung bei (Edwards, 2000; Ribbens et al., 2004; Dewulf et al., 2002b). Neben Insekten (Fliegen) als mögliche Vektoren (Dahle & Liess, 1992), wird auch eine Verbreitung des *KSP-Virus* mit dem Wind angenommen (Terpstra, 1987; Dewulf et al., 2002a). Beides scheint jedoch von untergeordneter Bedeutung zu sein.

Eine Übersicht über die Übertragungswege des *KSP-Virus* innerhalb der Wildschweinpopulation bzw. von Wildschweinen auf Hausschweine ist den Abb. 1 und 2. zu entnehmen.

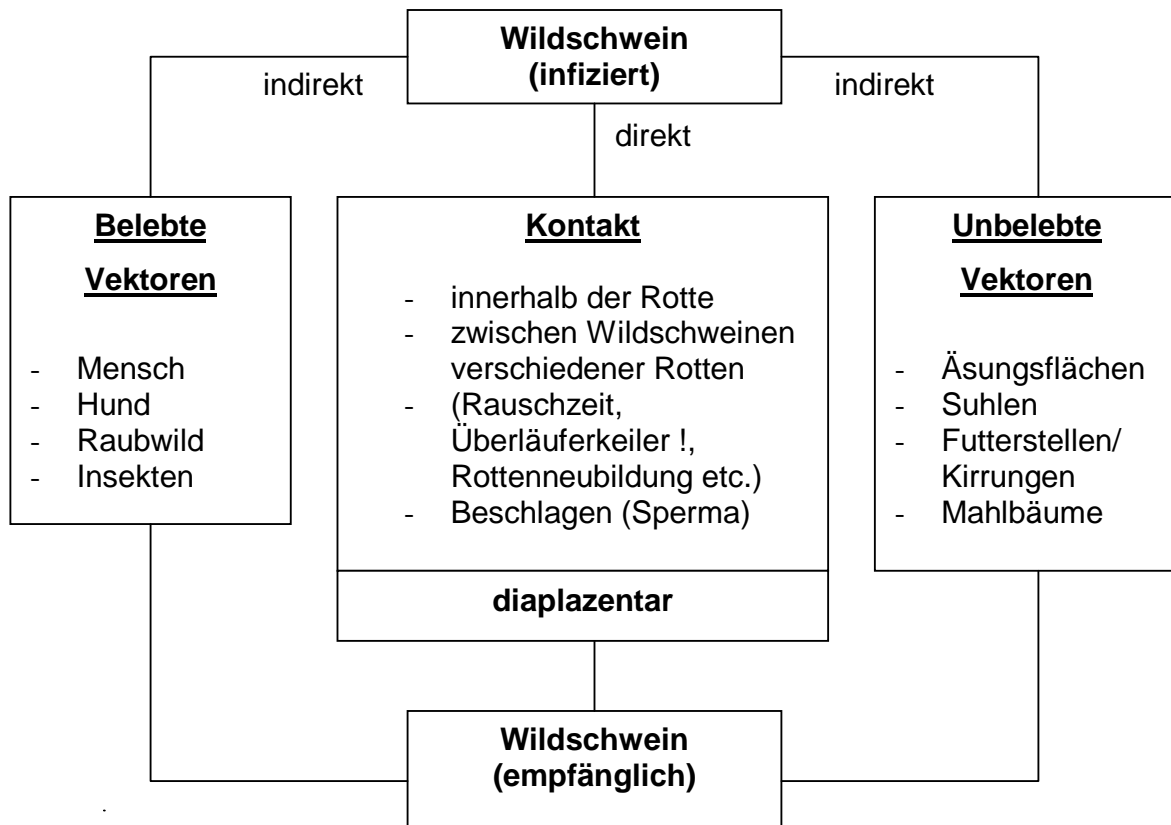


Abbildung 1: Mögliche Übertragungswege des *KSP-Virus* innerhalb der Schwarzwildpopulation (Kaden, 1999).

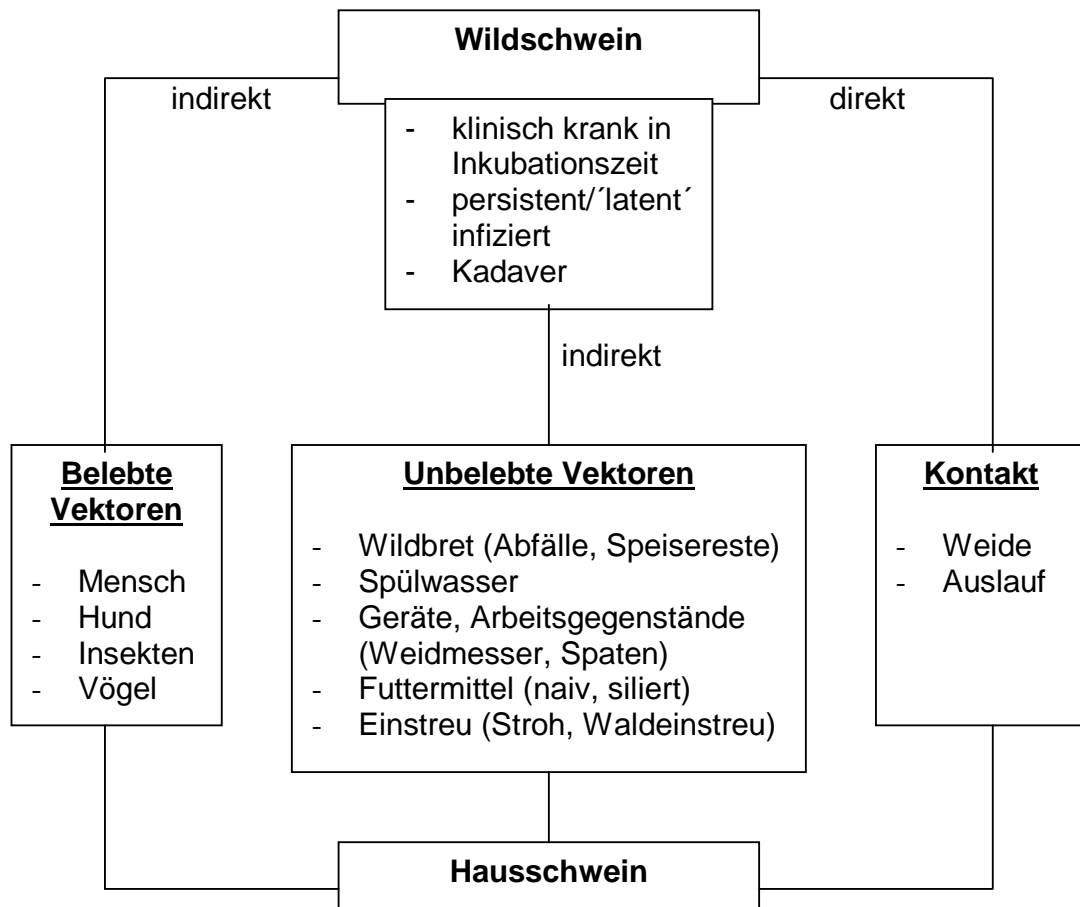


Abbildung 2: Mögliche Übertragungswege des *KSP-Virus* von Wildschweinen auf Hausschweine (Kaden, 1999).

Junge Tiere, die im Vergleich zu älteren wesentlich häufiger klinisch erkranken, spielen eine Hauptrolle bei der Virusverbreitung (Moennig & Plagemann, 1992). Zudem gelten persistent bzw. transient infizierte Frischlinge als mögliche Infektionsquelle (Depner et al., 1995, 2000). Das klinische Bild der Klassischen Schweinepest hat sich seit der Mitte des 20. Jahrhunderts von einer früher meist akuten, mit hoher Mortalitätsrate verbundenen Verlaufsform, zu einer immer häufiger chronisch verlaufenden Erkrankung verändert. Diese Veränderung wird mit dem Auftreten weniger virulenter Virus-Stämme erklärt (Meyers & Thiel, 1996; Paton et al., 2000). Sogenannte moderat virulente Virus-

Stämme, die bei kürzlich aufgetretenen Epidemien von Wild - und Hausschweinen isoliert wurden, zeichnen sich u.a. durch eine geringe Mortalität bei den erwachsenen Schweinen aus. Sie induzieren eine chronische Verlaufsform und werden durch infizierte Tiere über einen längeren Zeitraum ausgeschieden. Gleichzeitig wird durch das Überleben erwachsener Tiere eine ständige Reproduktion empfänglicher Individuen garantiert (Dahle & Liess, 1992). Kramer-Schadt et al. (2007) sehen in dem Vorkommen moderat virulenter Virusstämme in Verbindung mit der hohen Wildschweindichte den primären Grund für das Persistieren der KSP in Wildschweinpopulationen.

Auch Eingriffe des Menschen im Rahmen der Tierseuchenbekämpfung wirken sich auf die Epidemiologie einer Infektionskrankheit aus. Zu den derzeit durchgeführten Bekämpfungsmaßnahmen der KSP beim Wildschwein gehören zum einen ein angemessenes Jagdmanagement und zum anderen die orale Immunisierung.

Für den Aufbau eines gesunden Wildbestandes wird häufig das Lüneburger Modell angeführt, dessen wesentliche Kernpunkte in dem anzustrebenden hohen Anteil an Frischlingen an der Jagdstrecke (über 70%) sowie dem Schonen alter Bachen, insbesondere der Leitbache, zu sehen sind (Teuwsen, 1980). In Deutschland liegen die Abschusszahlen für Frischlinge unter einem Jahr jedoch lediglich bei bis zu 50% (Depner, Kern & Liess, 1998). Nach Kaden (1999) hat der relativ geringe Abschuss von Frischlingen sowie der erhöhte Anteil von älteren Sauen an der Jagdstrecke einerseits zu einem weiteren Anstieg der Schwarzwildpopulation geführt und andererseits die Altersstruktur zugunsten jüngerer, für das *KSP-Virus* empfänglicher Tiere verschoben. Wie an den Beispielen Mecklenburg-Vorpommern und Brandenburg sichtbar wird, resultiert aus dem Abschuss alter (immuner) Sauen eindeutig eine Reduktion der Populationsimmunität (Depner et al., 1998; Kaden, 1998). Zudem können Fehler in der Bejagung (Abschuss der Leitbache) die Rottenstruktur zerstören und zum Wandern der Rotte, und somit zur Verbreitung der KSP in entferntere Regionen führen. Kaden (1999) sieht in der Kombination aus einer verstärkten Bejagung (insbesondere der Frischlinge) und Durchseuchung (Schenken der älteren Stücke) ein probates Mittel für die Eliminierung des *KSP-Virus* aus dem Schwarzwildbestand.

Die orale Immunisierung dient der Verbesserung der Gruppenimmunität (Kaden et al., 2000). Obwohl klinische Studien gezeigt haben, dass die Impfung gegen KSP sehr effektiv ist (Kaden & Lange, 2001), kamen in Deutschland durchgeführte Feldstudien zu dem Ergebnis, dass die Immunisierung junger Wildschweine im Rahmen der meisten Impfkampagnen unzureichend war (Kaden et al., 2002). Dies wurde einerseits auf die vergleichsweise geringe Köderaufnahme (< 50%) der am Ende der Hierarchie stehenden Jungtiere, andererseits auf die mögliche Interferenz mit der lang andauernden maternalen Immunität zurückgeführt (Kaden et al., 2000; Müller et al., 2005). Gelingt es jedoch mittels oraler Immunisierung eine gleichbleibend hohe Antikörper-Rate von 60 % in einer Schwarzwildpopulation zu erreichen, ist nach Kaden et al. (2007) eine Tilgung der KSP innerhalb von ein bis zwei Jahren möglich. So konnte das Virus beispielsweise aus den Wildschweinpopulationen Niedersachsens und Baden-Württembergs eliminiert werden, während in den Bundesländern Rheinland-Pfalz und Mecklenburg-Vorpommern, die eine hohe Wilddichte zu verzeichnen haben, aktuell wieder Impfkampagnen stattfinden.

2.3.3 Die Epidemiologie der Virusübertragung am Beispiel der Aujeszky'schen Krankheit

Das *Pseudorabiesvirus* gehört zur Familie der *Herpesviridae* (Sabin, 1934) und gilt als Erreger der Aujeszky'schen Krankheit (Aujeszky, 1902). Während Equiden und höhere Primaten (einschließlich dem Menschen) weitgehend resistent gegenüber einer Infektion mit dem *PRV* sind, verläuft die Erkrankung der meisten Säugetiere innerhalb weniger Tage tödlich. Das Schwein hingegen wird als natürlicher Wirt und Hauptüberträger des Virus angesehen, bei dem die Letalität mit steigendem Alter abnimmt (Wittmann & Rziha, 1989). Das Virus besitzt die Fähigkeit in seinem natürlichen Wirt eine lebenslange latente Infektion zu etablieren (Alemañ et al., 2001). Diese Besonderheit der Herpesviren kann durch Reaktivierung latenter Infektionen mit nachfolgender Virusausscheidung zur Erregerpersistenz innerhalb einer Herde führen (Howarth, 1969; Davies & Beran, 1981) und stellt einen der wichtigsten Kernpunkte bezüglich der Epidemiologie der Aujeszky'schen Krankheit beim Wildschwein dar (Lutz et al., 2003;

Romero et al., 2003). Verschiedene Untersuchungen zur Prävalenz sowie Fallbeschreibungen der AK bei Wildschweinen (Dahle et al., 1993; Oslage et al., 1994; Müller et al., 1998; Lutz & Wurm, 1996; Gortázar et al., 2002; Lutz et al. 2003; Vincente et al., 2002) weisen auf ein endemisches Vorkommen des Erregers in Wildschweinbeständen hin (Lutz et al., 2003), das im Gegensatz zur KSP unabhängig von Ausbrüchen in Hausschweinbeständen zu sein scheint (Müller et al., 1998; Capua et al., 1997). In verschiedenen Regionen Ostdeutschlands, in denen das *PRV* in Wildschweinpopulationen natürlich zirkuliert, gibt es bislang keine Hinweise auf eine Virusübertragung auf Hausschweinbestände (Müller et al., 1998). Trotzdem kann ein potentielles Risiko für eine Übertragung nicht ausgeschlossen werden (Müller et al., 2001).

Die Übertragung des *PRV* kann sowohl oro-nasal (Müller et al., 1998; Romero et al., 2003), als auch durch den Deckakt (Romero et al., 2003) erfolgen. Zudem wird vermutet, dass das Virus durch Kannibalismus und Aasfressen weiterverbreitet werden könnte (Hahn et al., 1997; Müller et al., 2000). Eine Verschleppung des Erregers als Aerosol über mehrere km ist ebenfalls möglich (Christensen et al., 1993). Die Infektion von Wildschweinen durch Hausschweine ist durch den Kontakt mit Abprodukten (Gülle, Mist, Stallabgase, Kadaver u.a.) infizierter Hausschweinebetriebe, infizierte Ratten, infiziertes Fleisch und Schlachtabfälle oder Mülldeponien möglich (Dedek, 1994).

Die einmalige Infektion mit von Wildschweinen stammenden *PRV*-Stämmen induziert eine lang anhaltende aktive Immunität, die noch Jahre nach der Infektion passiv auf die Nachkommen übertragen wird. Frischlinge mit *PRV* spezifischen maternalen Antikörpern weisen diese länger als sechs Monate auf und scheinen daher nur von untergeordneter Rolle für die Virusübertragung innerhalb der Wildschweinpopulation zu sein. Es wird angenommen, dass die Verbreitung des Virus hauptsächlich Ende November / Anfang Dezember erfolgt, wenn aufgrund der Rauschzeit Kontakte und Stress unter den Wildschweinen zunehmen (Müller et al., 2005). Das mit zunehmendem Alter steigende Risiko einer Infektion wird anhand der deutlichen Zunahme der

Seroprävalenz bei über 24 Monate alten Wildschweinen sichtbar (van der Leek et al., 1993; Müller et al., 1998).

Weitgehend unbekannt sind die Ausdehnung klinischer Erkrankungen und das Vorkommen latenter *PRV*-Infektionen bei Wildschweinen (van der Leek et al., 1993). Vor einigen Jahren wurde ein einzelner Ausbruch der AK in einer Wildschweinpopulation in Spanien beschrieben (Gortázar et al., 2002). In dem betroffenen Gebiet hatte die Wildschweindichte in den letzten Jahrzehnten kontinuierlich zugenommen (Gortázar et al., 2006). Bislang geht man jedoch davon aus, dass Wildschweine von einer *PRV*-Infektion in der Regel nicht ernsthaft betroffen sind, selbst bei Infektionsdosen, die bei Hausschweinen zu schweren Krankheitsfällen führen. Verschiedene Studie über die experimentelle Infektion von Wildscheinen mit dem *PRV* weisen auf einen subklinischen oder latenten Krankheitsverlauf hin und sprechen für eine niedrige Virulenz der von Wildschweinen stammenden Stämme (Tozzini et al., 1982; Müller et al., 2001).

2.4 Das Vorkommen viraler und bakterieller (respiratorischer) Krankheitserreger beim Wildschwein

Unter der Fragestellung, ob Wildschweine als Reservoir für verschiedene porcine Krankheitserreger von Bedeutung sind, wurden in den letzten Jahren vermehrt Untersuchungen zum Vorkommen verschiedener viraler und bakterieller Erreger in Wildschweinpopulationen durchgeführt. Dabei handelte es sich in der Regel um serologische Untersuchungen an erlegten Wildschweinen. Vereinzelt wurde auch von Erregerisolierungen und Fallbeispielen berichtet.

2.4.1 *PRRSV*

Oslage et al. (1994) wiesen in Deutschland erstmals *PRRSV*-Antikörper in zwei von insgesamt 482 (= 0,4 %) Serumproben von Wildschweinen nach, die in der Jagdsaison 1991/1992 in Sachsen-Anhalt geschossen worden waren. Kurz darauf wurden in Frankreich in Regionen mit hoher Schweinedichte und hoher *PRRSV*-Prävalenz Wildschweinseren auf *PRRSV*-Antikörper untersucht und eine Seroprävalenz von 1,3 % ermittelt (Albina et al., 2000). Saliki et al. (1998) fanden innerhalb der Wildschweinpopulation von Oklahoma (USA) eine Seroprävalenz von 1,7 % vor. Andere Forschergruppen in Deutschland (Lutz & Wurm, 1996), Spanien (Vicente et al., 2002; Ruiz-Fons et al., 2006), Polen (Župančić et al., 2002), Slowenien (Vengust et al., 2006) und Kansas (USA) (Gipson et al., 1999) konnten bei Wildschweinen hingegen keine Serokonversion gegenüber dem *PRRSV* feststellen.

Im Oktober 2005 wurde in Italien ein junges Wildschwein (35-40 kg) durch einen Wildunfall getötet. Obwohl die bei der Sektion festgestellten pathologischen Veränderungen ausschließlich traumatische Verletzungen waren, fiel das Ergebnis der PCR zum Nachweis von *PRRSV* positiv aus. Bei dem aus Lungengewebe isolierten Virus handelte es sich um einen Wildtypstamm mit 6,5 % Sequenzunterschied zum Lelystadvirus (Bonilauri et al., 2006).

Bislang existieren keine Berichte über klinische Symptome einer *PRRSV*-Infektion bei Wildschweinen (Albina, 1997).

2.4.2 *Influenzavirus A*

Serologische Daten zum Vorkommen von *Influenzavirus A* bei Wildschweinen liegen von verschiedenen europäischen Ländern vor. In Spanien konnten für den Subtyp H1N1 Seroprävalenzen von 4 % und für H3N2 von 0 % (Vicente et al., 2002) ermittelt werden, während in Polen im Winter 1999/2000 für die Subtypen H1N1, H1N2 und H3N2 Seroprävalenzen von 0,7 %, 1 % und 0 % und wenige Jahre zuvor für H1N1 und H3N2 Prävalenzen von 24,1 % und 6,8 % festgestellt wurden (Markowska-Daniel & Pejsak, 1999; Markowska-Daniel, 2003). Ferroglio et al. (2003) in Italien sowie Vengust et al. (2006) in Slowenien konnten hingegen bei den von ihnen untersuchten Wildschweinen keine Serokonversion gegenüber dem *Influenzavirus A* feststellen. In den USA ergaben Untersuchungen zum Subtyp H1N1 Seroprävalenzen von 11 % (n=120) und 75 % (n=20) (Saliki et al., 1998; Gipson et al., 1999).

2.4.3 Bakterielle Krankheitserreger

Derzeit existieren nur wenige serologische Daten zum Vorkommen bakterieller (respiratorischer) Krankheitserreger bei Wildschweinen. Vicente et al. (2002) untersuchten u.a. die Seroprävalenz von Antikörpern gegen *M. hyopneumoniae*, *H. parasuis*, *S. suis* Typ 1 und 2, *E. rhusiopathiae* und *Salmonella* Serogruppe B und C. Die Autoren konnten jedoch außer für *E. rhusiopathiae* (5 %) sowie *Salmonella* Serogruppe B (4 %) und C (3 %) keine Serokonversion gegenüber den anderen Bakterien feststellen. Untersuchungen von Vengust et al. (2006) mittels ELISA ergaben hingegen bei insgesamt 178 untersuchten Serumproben von erlegten Wildschweine u.a. folgende Prävalenzen: *A. pleuropneumoniae* 52 %, *M. hyopneumoniae* 21 %, *H. parasuis* 18 %.

Ein Fallbericht von Kaden et al. (2001) beschreibt das Auftreten von Atrophischer Rhinitis in einer Wildschweinrotte in Mecklenburg-Vorpommern. Anhand des Nachweises von toxinbildenden *P. multocida* vom Kapseltyp D wurde bei einem 11 Monate alten Frischling mit klinischen Symptomen und Deformationen im Bereich des Gesichtsschädels eine Progressive Artrophische Rhinitis festgestellt. Zuvor waren in Deutschland durch Lutz (1988, 1996) und in einem Wildgatter in Österreich durch Steineck (1994) bereits Veränderungen am Gesichtsschädel von Wildschweinen als Folge einer Rhinitis Atrophicans beschrieben worden, ein Erregernachweis wurde jedoch nicht geführt.

Verkühlen (2005) befasst sich in seiner Dissertation mit dem Vorkommen und der medizinischen Bedeutung von *S. suis* bei Wildschweinen in Nordwestdeutschland. Von den 200 beprobten Wildschweinen wurde bei 92,8 % der untersuchten Tonsillen ein kultureller Nachweis von *S. suis* erbracht. Die Prävalenz für den Serotypen 2 betrug 11 % und unterschied sich stark in den 13 untersuchten Regionen (0 – 58 %).

Aktuelle Untersuchungen von Olvera et al. (2007) beschreiben die Isolierung von 2 verschiedenen *H. parasuis*-Stämmen und weiteren NAD-abhängigen Pasteurellaceae (*A. minor* und *A. indolicus*) aus Nasentupfern von 42 erlegten Wildschweinen. Auf Basis der Genotypisierung beider *H. parasuis*-Stämme wurden diese als nicht virulent eingestuft, mit der Vermutung, dass sie zum natürlichen Keimspektrum des Respirationstraktes von Wildschweinen gehören könnten.

3. Material und Methoden

3.1 Probenmaterial

Das im Rahmen der Dissertation untersuchte Probenmaterial stammt von Wildschweinen aus den Bundesländern Baden-Württemberg, Bayern, Saarland, Rheinland-Pfalz, Hessen, Thüringen, Sachsen, Nordrhein-Westfalen, Sachsen-Anhalt, Brandenburg, Berlin, Mecklenburg-Vorpommern, Schleswig-Holstein und Niedersachsen. Aus 33 Revieren gingen insgesamt 361 Wildschweine in die Untersuchung ein, von denen 361 Lungen- und Tonsillenproben entnommen wurden. Die beprobten Reviere der jeweiligen Bundesländer, die Anzahl der untersuchten Wildschweine, sowie das Probenentnahmedatum sind der Tabelle 2 zu entnehmen. Abbildung 3 zeigt ergänzend die geographische Lage der Reviere innerhalb der Bundesländer.

Tabelle 2: Daten zu Probenumfang und Entnahmedatum

Deutschland	Anzahl Reviere	Anzahl Tiere	Zeitraum
	33	361	06.10.2004- 07.01.2006
Bundesland	Revier-Nr.	Anzahl Tiere je Revier	Datum der Probenentnahme
Baden-Württemberg	1	2	11.12.2004
	2	20	17.12.2004
	19	8	25.11.2005
Bayern	3	6	09.10.2004
	4	9	04.12.2004
	20	15	19.11.2005
Saarland	5	19	19.11.2004
	21	11	11.11.2005
Rheinland-Pfalz	6	8	06.10.2004
	7	11	15.11.2004
	22	11	07.01.2006
Hessen	8	12	30.10.2004
	9	5	06.12.2004
	23	13	05.11.2005
Thüringen	10	6	27.11.2004
	24	20	30.11.2005
Sachsen	11	10	13.11.2004
	25	11	03.12.2005
Nordrhein-Westfalen	12	15	03.12.2004
	26	7	29.10.2005
	27	3	12.11.2005
	28	5	02.12.2005
Sachsen-Anhalt	13	8	22.10.2004
	29	21	05.11.2005
Niedersachsen	14	18	11.11.2004
	30	12	17.12.2005
Brandenburg	15	15	05.11.2004
	31	10	22.10.2005
Berlin	16	4	03.11.2004
Mecklenburg-Vorpommern	17	10	26.11.2004
	32	17	19.11.2005
Schleswig-Holstein	18	8	24.11.2004
	33	11	23.11.2005

Revierverteilung

2004/2005
2005/2006



Abbildung 3: Geographische Lage der untersuchten Reviere. Die Nummern innerhalb der Kreise bezeichnen die Reviernummern aus Tab. 2.

3.1.1 Entnahme und Konservierung

Alle beprobten Wildschweine stammen von Treibjagden aus den Wintern 2004/2005 und 2005/2006. Die erlegten Tiere wurden an speziellen Sammelplätzen oder direkt vor Ort aufgebrochen. In Rheinland-Pfalz fand das Aufbrechen an zentralen, im Rahmen von § 14a der Schweinepestverordnung eingerichteten Stellen, statt. Es folgte die Kennzeichnung der einzelnen Wildschweine, deren Zahnaltersbestimmung, sowie die Schätzung des Körpergewichtes. Die anschließend entnommenen Organproben wurden auf Eis transportiert und bis zur Probenverarbeitung bei –20°C gelagert. Das gekühlte, für die bakteriologische Untersuchung entnommene Tonsillengewebe wurde zur Untersuchung an das 'Institut für Hygiene und Infektionskrankheiten der Tiere' der Justus-Liebig-Universität Gießen gegeben.

3.1.2 Zahnaltersbestimmung

Die Altersschätzung erfolgte über die Beurteilung des Zahnwechsels der erlegten Wildschweine. Dazu wurde das in Tabelle 3 aufgeführte Schema herangezogen, das trotz individueller Unterschiede und einer großen Variationsbreite hinsichtlich des Wechsels einzelner Zähne eine monatsgenaue Altersschätzung erlaubt (Stubbe, 2001).

3.1.3 Gewichtsschätzung

Die Gewichte der einzelnen Tiere wurden durch die Jäger geschätzt, oder mit Hilfe einer Federwaage ermittelt.

3.2 Bearbeitung des Probenmaterials

3.2.1 DNA / RNA Isolierung aus Lungengewebe und Tonsillen

Die DNA/RNA-Isolierung aus Lungengewebe und Tonsillen erfolgte mit dem QIAamp® Viral RNA Mini Kit (Fa. QIAGEN, Hilden).

Das bei –20°C tiefgefrorene Probenmaterial wurde etwa 10-15 min bei Raumtemperatur angetaut. Anschließend erfolgte für die Isolierung der Nukleinsäuren die Entnahme von ca. 140 mg Gewebe aus dem Kern des Probenmaterials. Das Gewebestück wurde in ein 2,0 ml Eppendorfgefäß überführt und mit 560 µl AVL-Puffer inklusive Carrier-RNA vermischt. Nach Zugabe einer Stahlkugel (Durchmesser 5 mm) wurde die Probe in der Kugelmühle MM 300 (Fa. Retsch, Haan) 2 min bei 25 Hz homogenisiert und mindestens 10 min bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend wurden die Proben nach Zugabe von 560 µl 96 %igem Ethanol (Fa. Roth, Karlsruhe) 15 s mittels Vortexer gemischt und 3 min bei 16000 x g zentrifugiert. Von dem DNA/RNA-haltigen Überstand wurden 630 µl auf eine Säule mit Silicagelmembran (Qiagen spin column) pipettiert und 1 min bei 7000 x g zentrifugiert. Nach Überführen der Säule in ein sauberes 2 ml Sammelröhrchen wurde der beschriebene Schritt mit dem verbliebenem Überstand wiederholt. Zum Entfernen möglicher Kontaminanten (Proteine, Nukleasen, Inhibitoren) wurden die an die Silicamembran gebundenen Nukleinsäuren zweimal gewaschen. Zunächst erfolgte die Zugabe von 500 µl des Waschpuffers AW1 und eine einminütige Zentrifugation bei 7000 x g, und anschließend der zweite Waschschriff mit 500 µl des Waschpuffers AW2 und eine dreiminütige Zentrifugation bei 16000 x g. Zum Eluieren der gereinigten, an die Silicagelmembran gebundenen Nukleinsäuren wurde die Säule in ein RNase-freies 1,5 ml Eppendorfgefäß gesetzt, nach Zugabe von 60 µl RNase-freiem AVE Puffer für 5 min bei Raumtemperatur inkubiert und anschließend 1 min bei 7000 x g zentrifugiert. Die so gewonnene DNA/RNA wurde photometrisch auf Quantität und Qualität überprüft (Ultrospec 1100 pro, Amersham Bioscience, Freiburg) und bis zur Weiterverarbeitung bei – 20°C gelagert.

3.2.2 Probenbearbeitung im Rahmen der bakteriologische Untersuchungen

Ein ca. 1 cm³ großes Stück des gekühlten Tonsillengewebes wurde in ein steriles 1,5 µl Eppendorfgefäß überführt und an das 'Institut für Hygiene und Infektionskrankheiten der Tiere' der Justus-Liebig-Universität Gießen weitergeleitet. Dort erfolgte die bakteriologische Untersuchung der insgesamt 302 Tonsillenproben, insbesondere auf *α-hämolysierende Streptokokken*, *B. bronchiseptica* und *P. multocida*. *P. multocida*-Kolonien wurden anschließend mittels PCR auf das Vorhandensein toxinbildender Stämme untersucht. Dazu wurde eine einzelne Kolonie mit Hilfe einer sterilen Öse von der jeweiligen Blutagarplatte entnommen und die Bakterien-DNA nach der unter 3.2.1 beschriebenen Methode isoliert.

3.3 PCR

3.3.1 Nachweis von *PRRSV* und *Influenzavirus A*

Der Nachweis von *PRRSV* und *Influenzavirus A* erfolgte mittels RT-Multiplex-PCR. Nach der RT-PCR wurde zur Steigerung der Sensitivität und Spezifität eine Nested PCR durchgeführt, die gleichzeitig eine Differenzierung von nordamerikanischen und europäischen *PRRSV*-Isolaten erlaubte. Für die RT-PCR wurde ein Premix hergestellt (Tab. 4) und 18 µl des Premixes auf PCR-Gefäße verteilt. Anschließend wurden 2 µl der Probe (ca. 100 ng Nukleinsäure/µl) zupipettiert. Als Negativkontrolle wurde an Stelle der Probe nur AVE Puffer zugefügt und als Positivkontrolle für *PRRSV* ein *in-vitro*-Transkript des klonierten Amplifikates und für *Influenzavirus A* genomische RNA. Ebenso wurde bei jeder PCR eine Inhibitorkontrolle mitgeführt, die aus Probe und zugesetzter Positivkontrolle bestand. Hierdurch sollten in der Probe eventuell vorhandene Inhibitoren festgestellt werden.

Tabelle 3: Zusammensetzung des für die RT-PCR verwendeten Premixes

Reagenzien	Menge (µl)
<i>Mastermix bestehend aus:</i>	<i>15,48</i>
5 x GOLD Puffer	4,00
dNTP-Mix (10 mM)	1,60
MgCl (25 mM)	1,60
DTT (100 mM)	1,00
RNAse freies Wasser	7,28
<i>Primermix (5 µM je Primer)</i>	<i>2,00</i>
<i>Enzymmix bestehend aus:</i>	<i>0,52</i>
Ampli Taq Gold Hot Start Polymerase (5 U/µl)	0,20
MuLV Reverse Transcriptase (50 U/µl)	0,12
RNAse Inhibitor (20 U/µl)	0,20
<i>Gesamtvolumen (ohne RNA)</i>	<i>18,00</i>

Die Nested PCR wurde im Anschluss an die RT-PCR durchgeführt. Der 10 µl Reaktionsansatz setzte sich aus einem Premix (Tab. 5), sowie 1 µl des RT-PCR Reaktionsansatzes zusammen.

Tabelle 4: Zusammensetzung des für die Nested PCR verwendeten Premixes

Reagenzien	Menge (µl)
<i>Mastermix bestehend aus:</i>	8
Loading Dye (Auftragspuffer)	1
2X Multiplex PCR Mastermix	5
RNase-freies Wasser	2
<i>Primermix (14 µM)*</i>	1
<i>Gesamtvolumen (ohne DNA)</i>	9

*PRRSV3/4 und IAPF2/IAPR2: 2 µM je Primer und PRRSV-NA1/2: 3 µM je Primer

Die zur Vervielfältigung der *Influenzavirus A*- und *PRRSV*-spezifischen Sequenzabschnitte verwendeten Primerpaare der RT-PCR sind in Tabelle 6 dargestellt. Die Amplifizierung erfolgte unabhängig vom *Influenzavirus A*-Subtyp (IAPF1/IAPR1) bzw. *PRRSV*-Genotyp (PRRSV1/2). Tabelle 7 zeigt die in der Nested PCR eingesetzten Primer, mit dem *Influenzavirus A*-Subtyp unabhängigen Primerpaar IAPF2/IAPR2 und den spezifischen Primerpaaren für europäische (PRRSV3/4) und amerikanische (PRRSV-NA1/2) *PRRSV*-Isolate.

Tabelle 5: Primer zur Amplifikation eines *Influenzavirus A*-spezifischen und eines *PRRSV*-spezifischen Sequenzabschnittes

Name	5'-3'-Sequenz	Amplifikat-Länge (Bp)	Quelle
PRRSV1	5'-CAA CCT CCT GTA TGA ACT TGC-3'	258	Gilbert et al., 1997 ¹
PRRSV2	5'-AGG TCC TCG AAC TTG AGC TG-3'		
IAPF1	5'-CTA AGG CTA TGG AAC AGA TGG-3'	265	nach Willems (unveröffentlicht) ²
IAPR1	5'-GAT CAA GAA TCC ACA ATA TCA GG-3'		

¹ PRRSV1 am 5'-Ende um 3 Basen verlängert, ² Siehe auch Ellis & Zambon, 2001

Tabelle 6: Primer zur Amplifikation eines *Influenzavirus A*-spezifischen sowie eines *PRRSV* (europäisch)- und *PRRSV* (amerikanisch)-spezifischen Sequenzabschnittes

Name	5'-3'-Sequenz	Amplifikat-Länge (Bp)	Quelle
PRRSV3	5'-CTG TAT GAA CTT GCA GGA TG-3'	186	Gilbert et al., 1997 ¹
PRRSV4	5'-CGA CAA TAC CAT GTG CTG-3'		
PRRSV-NA1	5'-GGC GCA GTG ACT AAG AGA-3'	108	Gilbert et al., 1997
PRRSV-NA2	5'-GTA ACT GAA CAC CAT ATG CTG-3'		
IAPF2	5'-AAC AAT TGG GAC TCA TCC TAG C-3'	156	nach Willems (unveröffentlicht) ²
IAPR2	5'-ATA TCA GGT GCA AGA TCC CAA-3'		

¹ PRRSV3 am 5'-Ende um 2 Basen verlängert, PRRSV4 am 5'-Ende um 2 Basen gekürzt

² Siehe auch Ellis und Zambon, 2001

Die reverse Transkription und Amplifikation fand in einem Gradienten-Cycler (T-Gradient, Fa. Whatman Biometra, Göttingen) nach den in Tabelle 8 und 9 aufgeführten Zyklusbedingungen statt.

Tabelle 7: PCR-Bedingungen für die RT-PCR

Schritt	Temperatur [°C]	Zeit	Funktion	Anzahl
1	48	30 min	Reverse Transkription	1 x
2	95	10 min	Denaturierung und Aktivierung der Taq-Polymerase	1 x
3	94	20 s	Denaturierung	20 x
4	55	20 s	Annealing	
5	72	30 s	Extension	
6	72	7 min	Final Extension	1 x

Tabelle 8: PCR-Bedingungen für die Nested PCR

Schritt	Temperatur [°C]	Zeit	Funktion	Anzahl
1	95	15 min	Denaturierung und Aktivierung der Taq-Polymerase	1 x
2	94	30 s	Denaturierung	30 x
3	55	90 s	Annealing	
4	72	60 s	Extension	
5	72	10 min	Final Extension	1 x

3.3.2 Nachweis von *M. hyopneumoniae*, *A. pleuropneumoniae* und *H. parasuis*

Während der Nachweis von *M. hyopneumoniae* (MHP) und *A. pleuropneumoniae* (APP) in einer Multiplex-PCR erfolgte, wurden *H. parasuis* (HPS) in einer separaten PCR nachgewiesen. Die PCR- und Zyklusbedingungen waren dabei bis auf eine Ausnahme identisch (siehe Tab. 12). Bei allen PCRs setzte sich der Reaktionsansatz von insgesamt 20 µl aus dem gleichen Mastermix, den jeweiligen in Tabelle 11 beschriebenen Primern und 2 µl der Probe (ca. 100 ng DNA/µl) zusammen (Tab. 10).

Tabelle 9: Zusammensetzung des Premixes

Reagenzien	Menge (µl)
<i>Mastermix bestehend aus:</i>	16
Loading Dye (Auftragspuffer)	2
2X Multiplex PCR Mastermix	10
RNase-freies Wasser	4
<i>Primermix (4 µM/Primerpaar)</i>	2
<i>Gesamtvolumen (ohne DNA)</i>	18

Die zur Amplifikation der *MHP*-, *APP*- und *HPS*- spezifischen Sequenzabschnitte verwendeten Primer sind in der Tabelle 11 dargestellt.

Tabelle 10: Primer zur Amplifikation eines *MHP*- (*MHP1/2*), *APP*- (*APP1S/1AS*) und *HPS*- (*HPSF/R*) spezifischen Fragments

Name	5'-3'-Sequenz	Amplifikat-Länge (Bp)	Quelle
MHP1	5'-GCG ATC CAA ATC AGT GTG AGC-3'	676	nach Willems (unveröffentlicht)
MHP2	5'-CAG GCT TAG ATA TTC GCC GAT C-3'		
APP1S	5'-TGG CAC TGA CGG TGA TGA T-3'	442	Cho & Chae, 2003
APP1AS	5'-GGC CAT CGA CTC AAC CAT-3'		
HPSF	5'-TGA TGA GGA AGG GTG GTG T-3'	821	Oliveira et al., 2001 ¹
HPSR	5'-GGC TTC GTC ACC CTC TGT-3'		

¹ HPSF um eine Base am 5'-Ende gekürzt

Tabelle 11: Zyklusbedingungen für die *MHP/APP*- und *HPS*-PCR

Schritt	Temperatur [°C]	Zeit	Funktion	Anzahl
1	95	15 min	Denaturierung und Taq Aktivierung	1 x
2	94	30 s	Denaturierung	35 x
3	60*	90 s	Annealing	
4	72	60 s	Extension	
5	72	10 min	Final Extension	1 x

*Bei der Amplifikation der *HPS*-spezifischen Sequenz wurde eine Annealing-Temperatur von 63°C gewählt.

3.3.3 Nachweis toxinbildender *P. multocida*

Die Differenzierung der im Rahmen der bakteriologischen Untersuchung nachgewiesenen *P. multocida* in toxinbildende und nicht toxinbildende Stämme erfolgte durch eine Touchdown-PCR, bei der die Spezifität der Primer-Bindung durch zyklusweise Annäherung der Annealing-Temperatur an die zu erwartende Schmelztemperatur des Primers (T_m) erhöht wird. Zur Herstellung des Premixes wurden die in Tabelle 10 aufgeführten Reagenzien sowie die in Tabelle 14 dargestellten Primer in den angegebenen Mengenverhältnissen verwendet. Tabelle 13 gibt die Zyklusbedingungen unter denen der Erregernachweis durchgeführt wurde wieder.

Tabelle 13: Zyklusbedingungen für die *P. multocida*-PCR

Schritt	Temperatur [°C]	Zeit	Funktion	Anzahl
1	95	15 min	Denaturierung und Taq Aktivierung	1 x
2	95	30 s	Denaturierung	9 x
3	65*	90 s	Annealing	
4	72	60 s	Extension	
5	95	30 s	Denaturierung	30 x
6	55	90 s	Annealing	
7	72	60 s	Extension	
8	72	10 min	Final Extension	1 x

*Nach jedem Zyklus wurde die Annealing-Temperatur um 1°C gesenkt.

Tabelle 14: Primer zur Amplifikation eines für toxinbildende *P. multocida* spezifischen DNA-Abschnittes

Name	5'-3'-Sequenz	Amplifikat-Länge (Bp)	Quelle
PM1	5'-TGG TCA GAT GAT GCT AGA TAC TCC-3'	340	Kamp et al., 1996 ¹
PM2	5'-CCA AAC AGG GTT ATA TTC TGG AC-3'		

¹ PM1 am 5'-Ende um eine Base verlängert

3.4 Gelelektrophorese

Die Auftrennung der PCR-Amplifikate von *PRRSV* (europäisch und amerikanisch) und *Influenzavirus A* erfolgte in 2 %igen, die von *A. pleuropneumoniae*, *M. hyopneumoniae* und *H. parasuis* in 1 %igen Agarosegelen (Agarose NEE0 [Roth, Karlsruhe]) bei einer Spannung von 100 V für 20 min. Als Laufpuffer diente 1x TAE. Die Geltaschen wurden jeweils mit 5 µl des PCR-Produktes geladen. Eine 100 Bp-Leiter (Roth, Karlsruhe) diente als Größenstandard.

3.5 Photodokumentation

Bilder der Ethidiumbromid gefärbten Gele wurden digital aufgenommen (Canon G2 Power-Shot, Canon Inc., Tokio, Japan), analysiert und archiviert (BioDoc Analyze, Whatman Biometra, Göttingen).

3.6 Sequenzierungsarbeiten

Für den Vergleich der amplifizierten *PRRSV*-Sequenzen der untersuchten Wildschweinproben mit bereits analysierten, in der Gendatenbank GeneBank© gespeicherten Sequenzen von Hausschweinen wurden die *PRRSV*-Amplifikate (europäischer und amerikanischer Genotyp) einer positiven Probe sequenziert.

3.6.1 Nested PCR

Um eine ausreichende Menge an Amplifikat zu erhalten wurden die Amplifikate der *PRRSV*-positiven Probe 1/100 verdünnt und hiervon 5 µl reamplifiziert. Die Reamplifikation der PCR-Produkte wurde für amerikanische und europäische *PRRSV*-Isolate in getrennten PCR-Ansätzen mit einem Volumen von je 50 µl durchgeführt (Tab. 15).

Tabelle 12: Zusammensetzung des für die Nested PCR verwendeten Premixes

Reagenzien	Menge (µl)
<i>Mastermix bestehend aus:</i>	40
Loading Dye (Auftragspuffer)	5
2X Multiplex PCR Mastermix	25
RNAse-freies Wasser	10
<i>Primermix (4 µM/Primerpaar)</i>	5
<i>Gesamtvolumen (ohne DNA)</i>	45

3.6.2 Aufreinigung der PCR-Amplifikate

Im Anschluss an die Nested PCR wurden die reamplifizierten PCR-Produkte mit ExoSAP-IT® PCR Clean-up (USB Corporation, Cleveland, USA) nach den Angaben des Herstellers aufgereinigt. ExoSAP-IT® beinhaltet die zwei hydrolytischen Enzyme Exonuklease I und Alkalische Phosphatase, die überschüssige Primer abbauen und Nukleotide dephosphorylieren. Zu 20 µl des PCR-Ansatzes wurden 8 µl ExoSAP-IT® pipettiert, gemischt und die PCR-Gefäße für 15 min im vorgeheizten T-Gradienten-Cycler (Whatman Biometra, Göttingen) bei 37°C inkubiert. Die Enzyme wurden anschließend bei 80°C für 15 min inaktiviert.

3.6.3 Sequenzierung

Die Sequenzierung des aufgereinigten europäischen und amerikanischen *PRRSV*-Amplifikates erfolgte durch die GATC Biotech AG (Konstanz, Deutschland).

4. Ergebnisse

Von insgesamt 361 Wildschweinen wurden Gewebeproben von Tonsillen und Lungen mittels PCR und Erregerkultur auf verschiedene pneumopathogene Krankheitserreger untersucht.

4.1 Darstellung der Krankheitserreger mittels Agarose-Gelelektrophorese

Durch die Amplifikation der *PRRSV* (europäisch und amerikanisch)- und *Influenzavirus A*-spezifischen Sequenzabschnitte entstanden bei der Gelelektrophorese drei charakteristische Banden mit einer Länge von 186 (*PRRSV* europäisch), 108 (*PRRSV* amerikanisch) und 156 (*Influenzavirus A*) Basenpaaren. Die Abbildung 4 zeigt ein *PRRSV*- / *Influenzavirus A*-spezifisches Bandenmuster der Multiplex-Nested-PCR: positiv getestete Proben finden sich für *PRRSV* (europäisch und amerikanisch) allein auf Spur 1, 4, 7 und 10, für *Influenzavirus A* allein auf Spur 6, 9 und 11 und für alle drei Erreger auf Spur 12. Die Spuren 2, 3, 5 und 8 weisen *PRRSV* bzw. *Influenzavirus A* negative Proben auf.

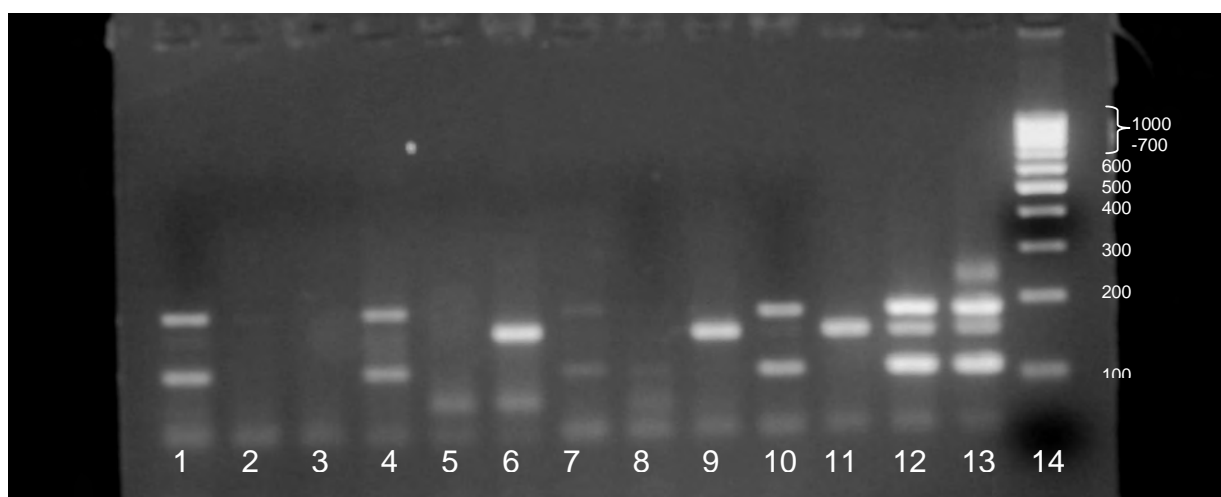


Abbildung 4 : Typisches Bandenmuster der *PRRSV*- / *Influenzavirus A*-Multiplex-Nested-PCR. **Spur 1-12** Proben X 07L - X 18L (in angegebener Reihenfolge), **Spur 13** Positivkontrolle, **Spur 14** Größenstandard (Angaben in Basenpaaren). Die Negativkontrolle befand sich auf Spur 9 in Reihe 2 (nicht abgebildet).

Die Amplifikation der spezifischen Sequenzabschnitte für *M. hyopneumoniae*, *A. pleuropneumoniae* und *H. parasuis* führte nach Auftrennung der Fragmente in der Gelelektrophorese zur Abbildung von drei charakteristischen Banden mit einer Länge von 676 (*MHP*), 442 (*APP*) und 821 (*HPS*) Basenpaaren.

Die Abbildung 5 zeigt ein *MHP*- / *APP*-spezifisches Bandenmuster der Multiplex-PCR: positiv getestete Proben sind für *MHP* allein auf Spur 1, 2, 4 und 5, für *APP* allein auf Spur 9 und für beide Erreger auf Spur 3, 6 und 7 sichtbar. Auf den Spuren 8, 10, 11 und 12 befinden sich *MHP* bzw. *APP* negative Proben.

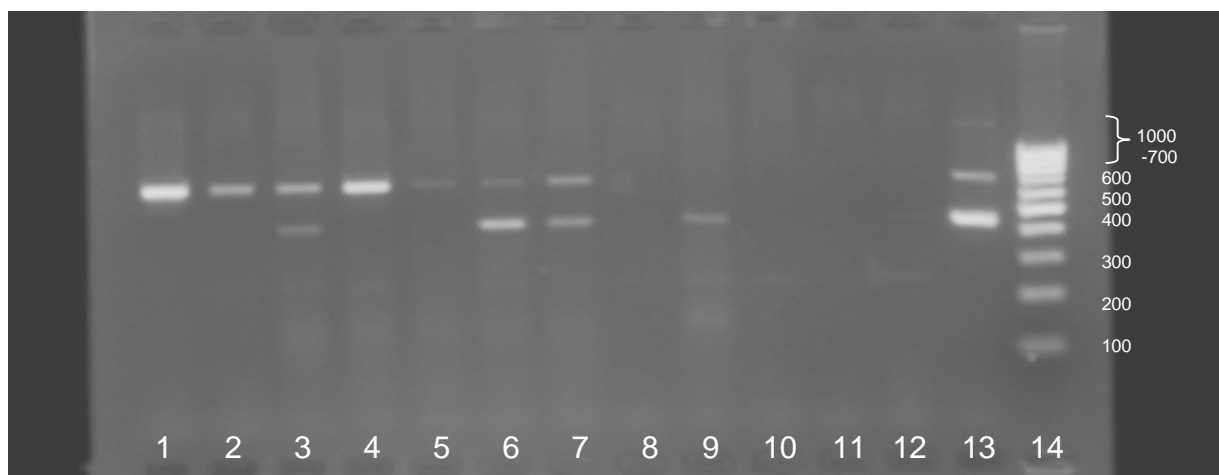


Abbildung 5: Typisches Bandenmuster der *MHP*- / *APP*-Multiplex-PCR. **Spur 1-12** Proben I2 20T, II1 01T – II1 06T, II2 01T – II2 05T (in angegebener Reihenfolge), **Spur 13** Positivkontrolle, **Spur 14** Größenstandard (Angaben in Basenpaaren). Die Negativkontrolle befand sich auf Spur 13 in Reihe 2 (nicht abgebildet).

Abbildung 6 lässt ein *HPS*-spezifisches Bandenmuster erkennen: *HPS* positive Proben befinden sich auf Spur 8, 9 und 11, *HPS* negative Proben auf Spur 1-7 und 10.

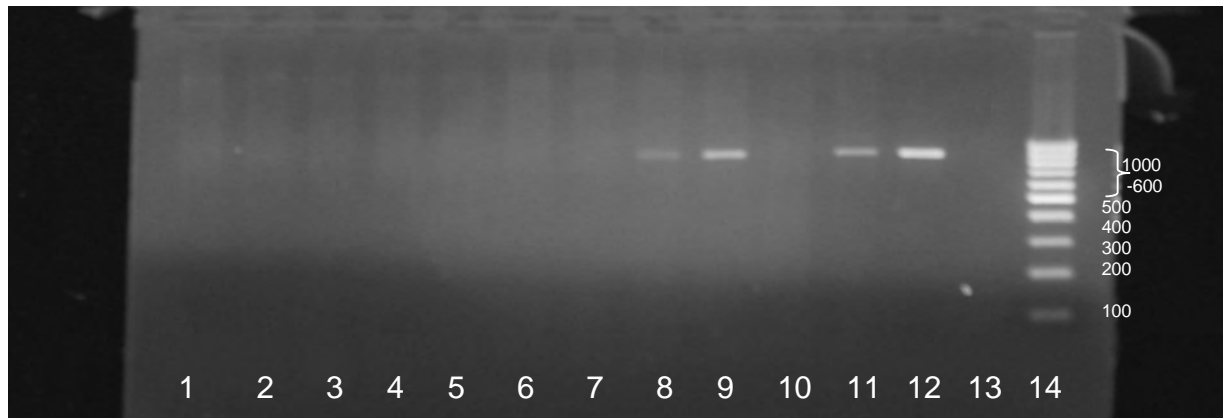


Abbildung 6: Typisches Bandenmuster der *HPS*-PCR. **Spur 1-11** Proben V1 06L – V1 12L, V2 01L - V2 04L (in angegebener Reihenfolge), **Spur 12** Positivkontrolle, **Spur 13** Negativkontrolle, **Spur 14** Größenstandard (Angaben in Basenpaaren).

4.2 Virale respiratorische Krankheitserreger

4.2.1 *PRRSV*

4.2.1.1 Prävalenzen

Im Gegensatz zur insgesamt weiten Erregerverbreitung von *APP*, *MHP* und *HPS* (s.u.) beschränkte sich der Nachweis des *PRRSV* (europäisch bzw. amerikanisch) auf die Bundesländer Schleswig-Holstein, Mecklenburg-Vorpommern, Niedersachsen, Brandenburg, Baden-Württemberg und das Saarland.

Prävalenzen ergaben sich lediglich für die Jagdsaison 2004/2005, mit höheren Werten für die nördlichen Bundesländer. Die durchschnittlichen Erregerprävalenzen für beide Untersuchungszeiträume betrug 5,5 % für das europäische bzw. 3,6 % für das amerikanische *PRRSV*. Das prozentuale Vorkommen für das europäische *PRRSV* lag in Schleswig-Holstein bei 50 %, Mecklenburg-Vorpommern bei 30 %, Niedersachsen bei 27,8 % und Brandenburg bei 40 %. Für das amerikanische *PRRSV* wurden Prävalenzen von 25 % in Schleswig-Holstein, 27,8 % in Niedersachsen und 33,3 % in Brandenburg

ermittelt. In den südlichen Bundesländern fielen die Prävalenzen mit 4,5% in Baden-Württemberg (*PRRSV* europäisch und amerikanisch) und 5,3% im Saarland (*PRRSV* europäisch) vergleichsweise niedrig aus (Abb. 7).

Hervor zu heben sind die drei Reviere mit den Nummern 5/21, 14/30 und 18/33, welche sowohl im Winter 2004/2005 als auch 2005/2006 in die Untersuchung eingingen. Während in der ersten Jagdsaison europäisches und auch amerikanisches *PRRSV* nachgewiesen wurde, waren die in der zweiten Jagdsaison untersuchten Wildschweine *PRRSV*-RNA negativ (Abb. 8 und 9).

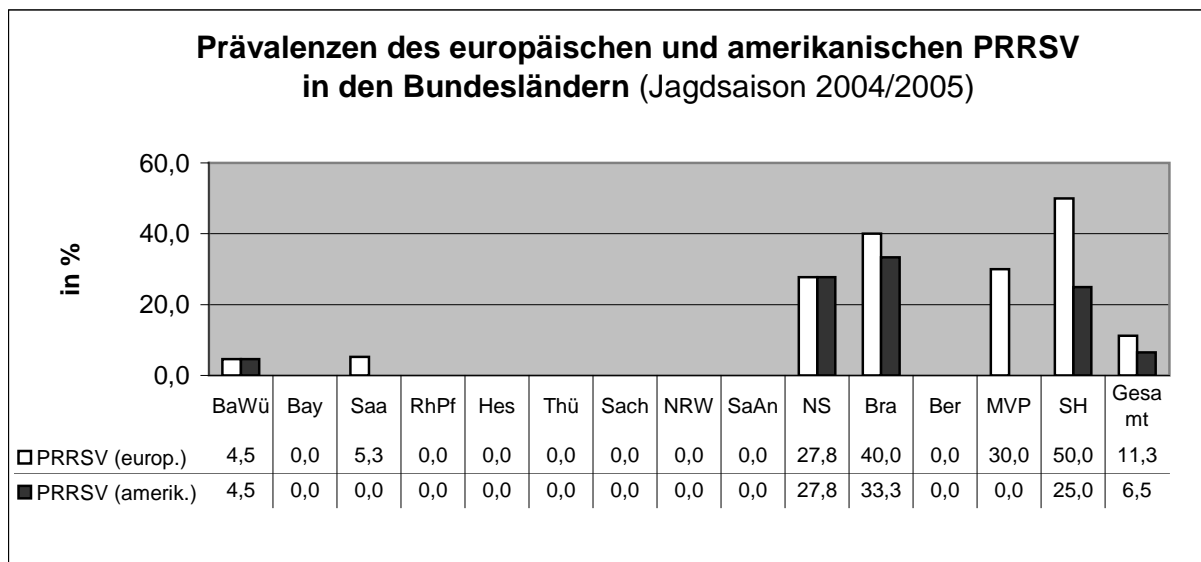


Abbildung 7: Prävalenzen für das europäische und das amerikanische *PRRSV* in den untersuchten Bundesländern in der Jagdsaison 2004/2005.

Prävalenzen des europäischen PRRSV in den Revieren



Abbildung 8: Prozentuales Vorkommen des europäischen PRRSV in den untersuchten Revieren (Jagdsaison 2004/2005 und 2005/2006).

Prävalenzen des amerikanischen PRRSV in den Revieren



Abbildung 9: Prozentuales Vorkommen des amerikanischen *PRRSV* in den untersuchten Revieren (Jagdsaison 2004/2005 und 2005/2006).

4.2.1.2 Gewebeverteilung

RNA des europäischen *PRRSV* wurde zu 95,2 % aus Lungen- und zu 4,8 % aus Tonsillenproben nachgewiesen. Dabei waren bei keinem der positiven Wildschweine beide Gewebe gleichzeitig positiv. Die RNA des amerikanischen *PRRSV* stammte zu 100 % aus Lungenproben (Abb. 10).

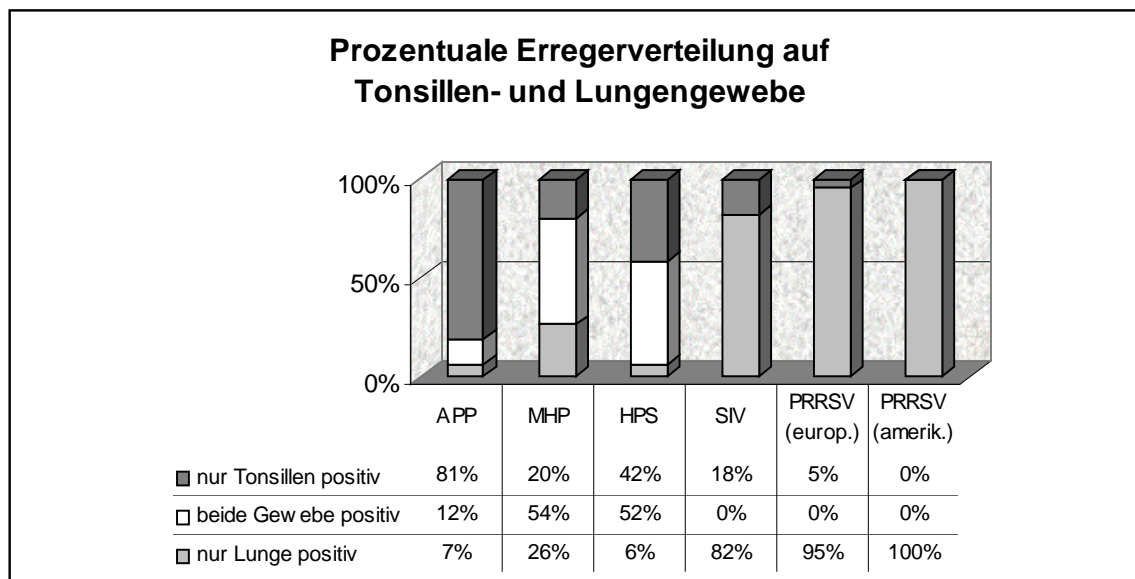


Abbildung 10: Erregerprävalenzen in Tonsillen und Lungengewebe.

4.2.1.3 Sequenzunterschiede

Zur Überprüfung der elektrophoretisch nachgewiesenen *PRRSV*-Amplifikate wurde ein direkter Homologie-Vergleich mit dem Lelystadvirus und dem Impfvirus 'Ingelvac PRRS' der Gendatenbank GeneBank®, zugänglich unter www.ncbi.nlm.nih.gov, durchgeführt. Die Sequenzierung der amplifizierten Nukleotidfragmente des europäischen und amerikanischen *PRRSV* erfolgte durch die GATC Biotech AG (Konstanz, Deutschland).

Trotz der nachweislich hohen genetischen Variabilität des *PRRSV*, zeigte der Vergleich von 193 Basen des europäischen Wildschweinisolates mit der Sequenz des

Lelystadvirus lediglich eine Abweichung im Bereich von zwei Basen auf. Dies entspricht einer genetischen Übereinstimmung von 98,96 %. Es handelte sich dabei um zwei Punktmutationen (Abb. 11).

>gi|11125727:8000-9000 Lelystad virus, complete genome

ACCACTCTTCAACATGGTTTTGAGCTTTATGTCCCTACTGTGCCCTATAGTGTTCATGGAGTACCTTGATT
CACGCCCTGACACCCCTTTTATGTGTACTAAACATGGCACTTCCAAGGCTGCTGCAGAGGACCTCCAAAA
ATACGACCTATCCACCCAAGGATTTGTCCTGCCTGGGGTCCACGCCTAGTACGCAGATTCATCTTTGGC
CATATTGGTAAGGCGCCGCCATTGTTCCCTCCCATCAACCTATCCCGCCAAGAACTCTATGGCAGGGATCA
ATGGCCAGAGGTTCCCAACAAAGGACGTTTCAGAGCATACCTGAAATTGATGAAATGTGTGCCCGCGCTGT
CAAGGAGAATTGGCAAACCTGTGACACCTTGACCCCTCAAGAAACAGTACTGTTCCAAGCCCCAAACCAGG
ACCATCCTGGGCACCAACAACCTTTATTGCCTTGGCTCACAGATCGGCGCTCAGTGGTGTACCCAGGCAT
TCATGAAGAAGGCTTGGAAGTCCCCAATTGCCTTGGGGAAAAACAAATTCAAGGAGCTGCATTGCACTGT
CGCCGGCAGGTGTCTTGAGGCCGACTTGGCCTCCTGTGACCGCAGCACCCCCGCCATTGTAAGATGGTTT
GTTGCCAACCT**C**CTGTATGAACTTGACAGGATGTGAAGAGTACTTGCCTAGCTATGTGCTTAATTGCTGCC
ATGACCTCGTGGCAACACAGGATGGTGCCTTCACAAAACGCGGTGGCCTGTCGTCCGGGGACCCCGT**C**AC
CAGTGTGTCCAACACCGTATATTCACTGGTAATTTATGCCCAGCACATGGTATTGTCGGCCTTGAAAATG
GGTCATGAAATTGGTCTTAAGTTCCTCGAGGAACAGCTCAAGTTCGAGGACCTCCTTGAAATTCAGCCTA
TGTTGGTATACTCTGATGATCTTGTCTTGTACGCTGAAAGACCCACATTTCCCAATTACCACTGGTGGGT
CGAGCACCTTGACCTGATGCT

———— Homologe Sequenz (**fett** = nicht homologe Basen)

Abbildung 11: Homologie-Vergleich zwischen Lelystadvirus und dem vom Wildschwein isolierten europäischen *PRRSV*. Basenabweichungen zwischen den Sequenzen sind fett dargestellt; anstelle des Cytosins lag bei der Wildschweinsequenz jeweils eine Substitution durch eine Thymidin-Base vor.

Der direkte Homologie-Vergleich zwischen dem Impfvirus 'Ingelvac PRRS' und dem beim Wildschwein nachgewiesenen amerikanischen *PRRSV* erfolgte auf der Grundlage von 50 Basen des ORF 1. Zwischen Impfvirus und Wildschweinisolat fiel eine

Veränderung im Bereich von 2 Basen auf, ebenfalls in Sinne zweier Punktmutationen. Dies kommt einer genetischen Übereinstimmung von 96 % gleich (Abb. 12).

```
>gi|11878202:8500-9000 Porcine reproductive and respiratory syndrome
virus strain Ingelvac PRRS Vet vaccine polyprotein ORFlab gene,
complete cds
```

```
GCGGGAAGAAGAAGACTAGGACCATACTCGGCACCAATAACTTCATCGCACTAGCCCACCGAGCAGTGTT
GAGTGGTGTTACCCAGGGCTTCATGAAAAAGGCGTTTAACTCGCCCATCGCCCTCGGAAAGAACAAGTTT
AAGGAGCTACAGACTCCGGTCCTGGGCAGGTGCCTTGAAGCTGATCTCGCATCCTGCGATCGATCCACGC
CTGCAATTGTCCGCTGGTTTGCCGCCAACCTTCTTTATGAACCTGCCTGTGCTGAAGAGCATCTACCGTC
GTACGTGCTGAACTGCTGCCACGACTTACTGGTCACGCAGTCCGGCGCAGTGACTAAGAGAGGTGGCCTG
TCGTCTGGCGACCCGATCACCTCTGTGTCTAACACCATTATAGTTTGGTGATCTATGCACAGCATATGG
TGCTTAGTTACTTCAAAAAGTGGTCACCCCCATGGCCTTCTGTTCTTACAAGACCAGCTAAAGTTTGAGGA
CATGCTCAAGG
```

———— Homologe Sequenz (**fett** = nicht homologe Basen)

Abbildung 12: Homologie-Vergleich zwischen dem amerikanischen PRRS-Lebendimpfvirus (Ingelvac PRRS) und dem beim Wildschwein isolierten amerikanischen *PRRSV* auf der Basis der ORF 1-Sequenz. Basenabweichungen zwischen den Sequenzen sind fett dargestellt; anstelle des Cytosins lag bei der Wildschweinsequenz eine Substitution durch Thymidin und anstelle des Thymidins eine Substitution durch Cytosin vor.

Der Vergleich des europäischen und amerikanischen *PRRSV*-Wildschweinisolates mit verschiedenen Hausschweinisolaten vom gleichen Genotyp aus der Gendatenbank zeigt die enge Verwandtschaft zwischen dem europäischen Wildschweinisolat und zwei niederländischen (Accession.-No. AY588319 und M96262) sowie einem thailändischen Isolat (Accession.-No. DQ864705) einerseits und dem amerikanischen Wildschweinisolat und einem chinesischen Isolat (Accession.-No. AF405233) andererseits (Abb. 13.1 und 13.2).

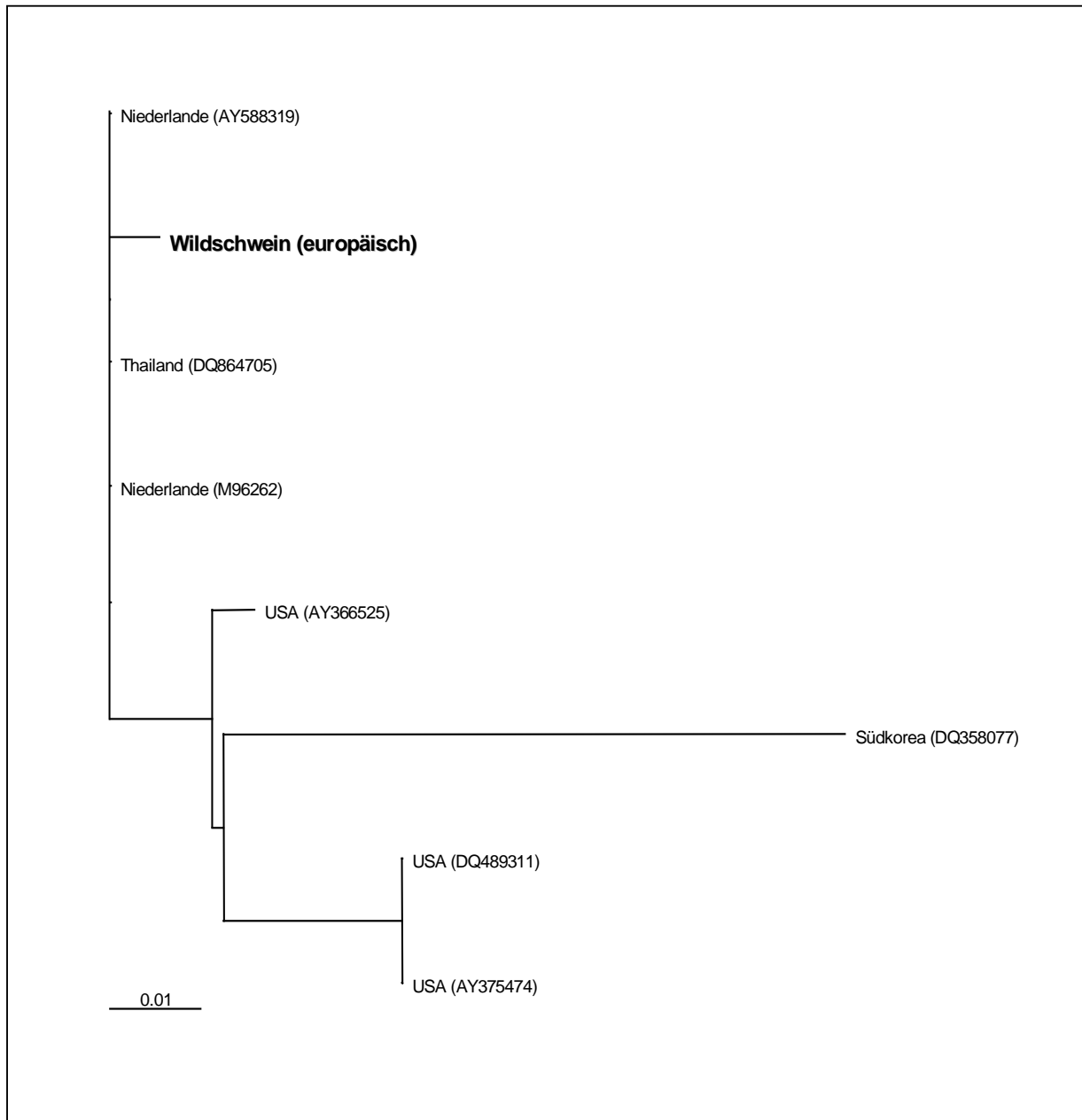


Abbildung 13.1: Der phylogenetische Baum auf der Basis von 188 Basen des ORF 1 zeigt die Verwandtschaftsgrade zwischen dem nachgewiesenen europäischen *PRRSV*- Wildschweinstamm und ausgewählten europäischen *PRRSV*-Isolaten von Hausschweinen aus anderen Ländern, deren Sequenzen in der Genbank GeneBank© unter www.ncbi.nlm.nih.gov veröffentlicht sind (die Nummern in den Klammern bezeichnen die Accession.-No.)

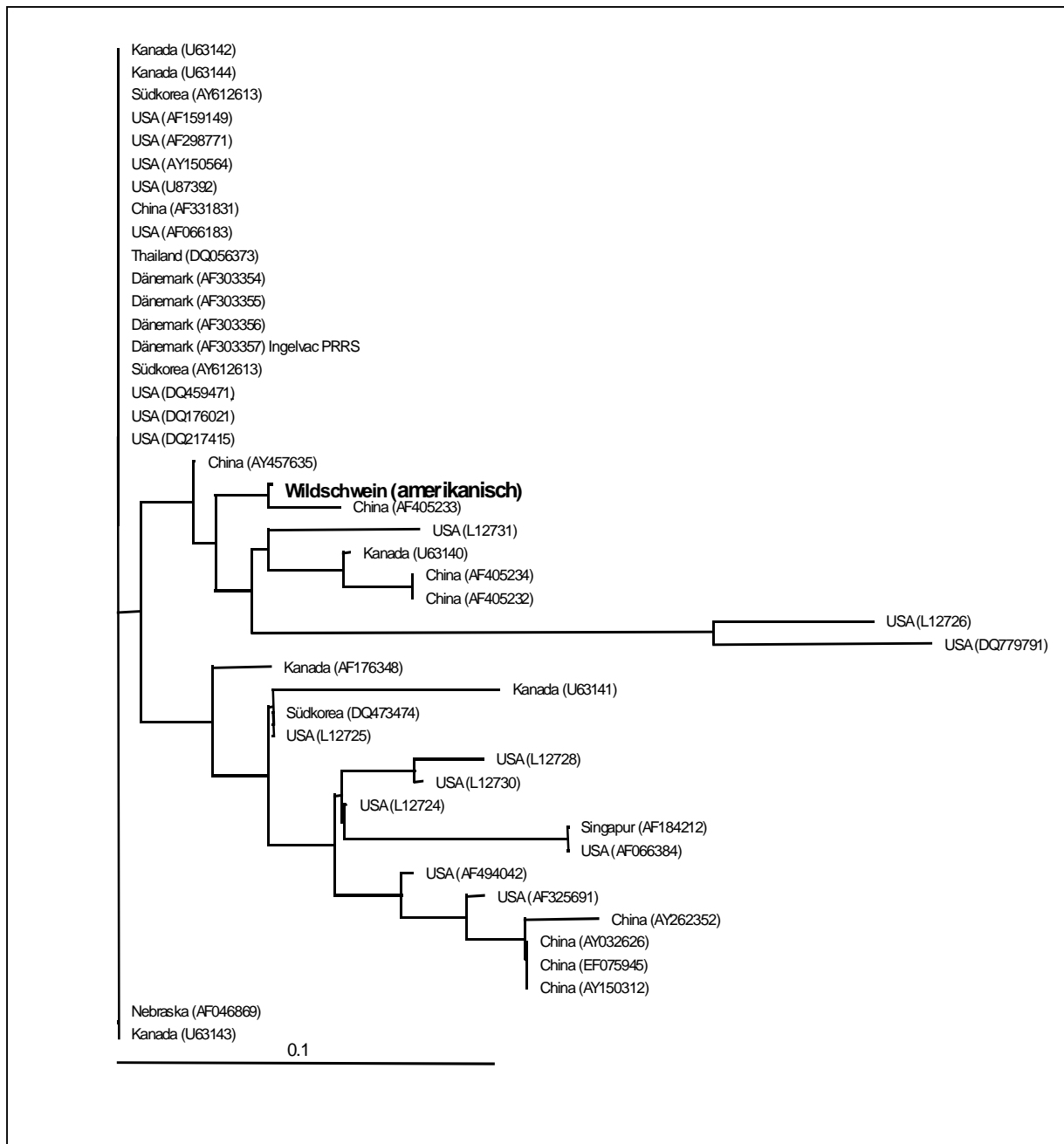


Abbildung 13.2: Der phylogenetische Baum auf der Basis von 50 Basen des ORF 1 zeigt die Verwandtschaftsgrade zwischen dem nachgewiesenen amerikanischen *PRRSV*- Wildschweinstamm und ausgewählten amerikanischen *PRRSV*-Isolaten von Hausschweinen aus anderen Ländern, deren Sequenzen in der Gendatenbank GeneBank© unter www.ncbi.nlm.nih.gov veröffentlicht sind (die Nummern in den Klammern bezeichnen die Accession.-No.)

4.2.2 *Influenzavirus A*

4.2.2.1 Prävalenzen

Das Verbreitungsmuster des Schweineinfluenzavirus ähnelte dem des *PRRSV*, wobei der Erreger neben den Bundesländern Schleswig-Holstein, Mecklenburg-Vorpommern, Niedersachsen, Brandenburg, Baden-Württemberg und Saarland, zusätzlich noch mit geringer Erregerhäufigkeit in Bayern und Rheinland-Pfalz nachgewiesen wurde.

Für das *Influenzavirus A* betrug die durchschnittliche Prävalenz in der Saison 2004/2005 10,3 %, während in der Saison 2005/2006 lediglich ein Wert von 1,7 % ermittelt wurde. Daraus ergab sich insgesamt eine Erregerhäufigkeit von 6,4 %, wobei die Proben von der Hälfte aller untersuchten Bundesländer frei von *Influenzavirus A*-RNA waren. Niedrige Prävalenzen (< 13,6 %) wurden in Rheinland-Pfalz, Bayern, Saarland und Baden-Württemberg, hohe Prävalenzen (33,3 % und 40 %) in Brandenburg und Niedersachsen nachgewiesen. Mecklenburg-Vorpommern und Schleswig-Holstein lagen mit 20 % und 25 % im mittleren Prävalenzbereich (Abb. 14).

Die drei Reviere mit den Nummern 5/21, 14/30 und 18/33, die als einzige in beiden Wintern untersucht wurden, waren entweder in der Saison 2004/2005 oder in der Saison 2005/2006, aber nie zu beiden Zeitpunkten der Probenentnahme *Influenzavirus A*-positiv (Abb. 15).

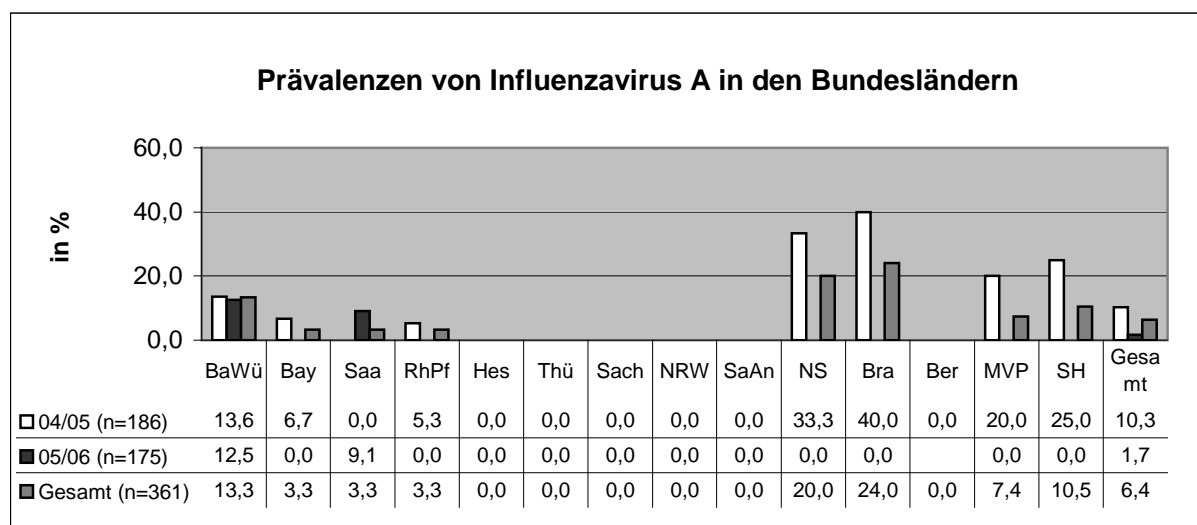


Abbildung 14: Bundesweit ermittelte Prävalenzen für *Influenzavirus A* in der Jagdsaison 2004/2005 und 2005/2006.

Influenzavirus A-Prävalenzen in den Revieren

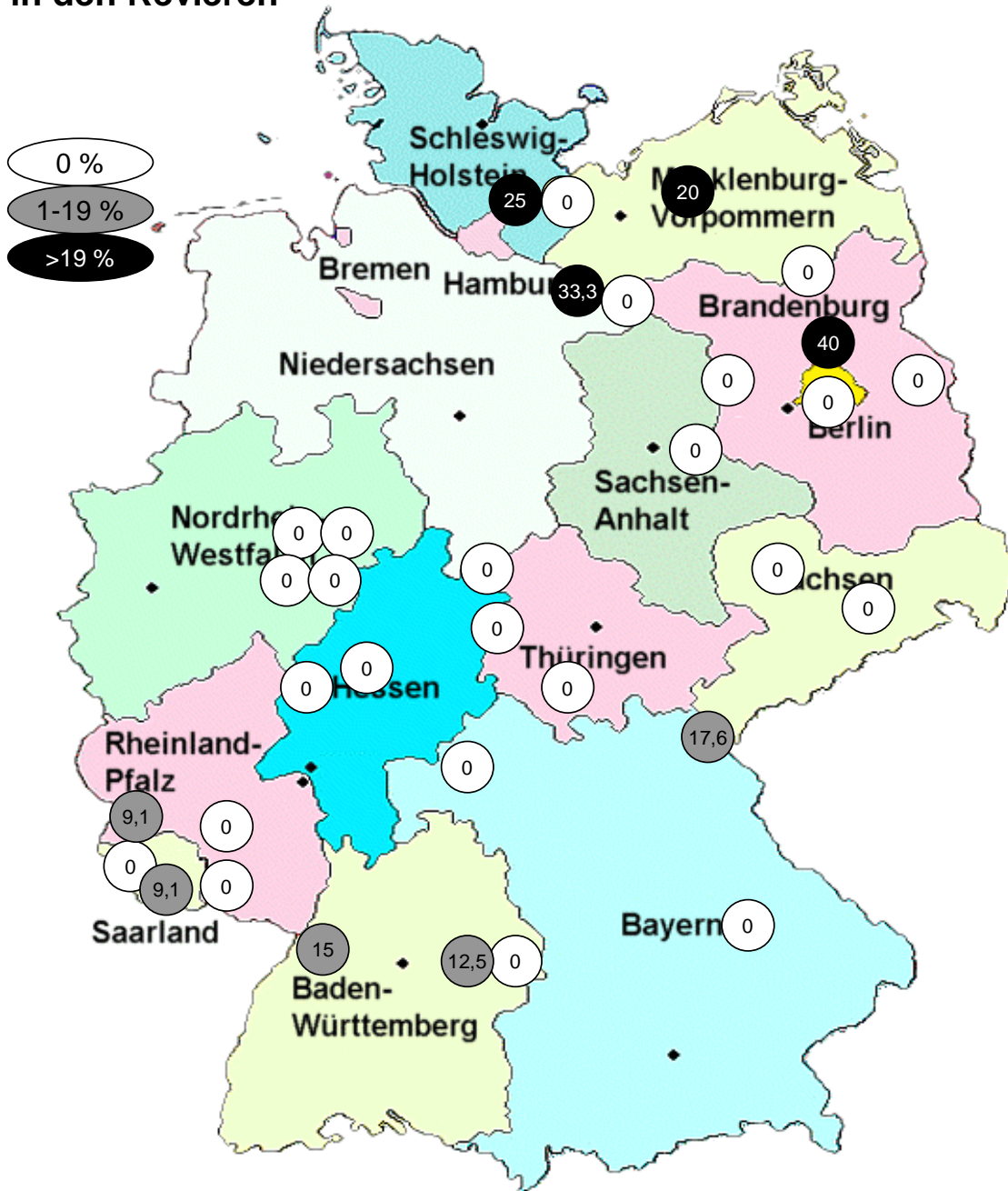


Abbildung 15: Prozentuales Vorkommen von *Influenzavirus A* in den untersuchten Revieren (Jagdsaison 2004/2005 und 2005/2006).

4.2.2.2 Gewebeverteilung

RNA des Schweineinfluenzavirus wurde zu 81,8 % in Lungenproben und lediglich zu 18,2 % in Tonsillenproben nachgewiesen. Ähnlich wie bei *PRRSV* enthielt keines der positiven Wildschweine sowohl in Lungen- als auch in Tonsillengewebe Erreger-RNA (Abb. 10, s.o.).

4.3 Bakterielle respiratorische Krankheitserreger

4.3.1 *Mycoplasma hyopneumoniae*

4.3.1.1 Prävalenzen

Unter Berücksichtigung beider Untersuchungszeiträume ergaben sich für *M. hyopneumoniae* weit über dem Durchschnitt liegende Erregerprävalenzen in Thüringen, NRW und Schleswig-Holstein (≥ 70 %).

Die durchschnittliche Nachweisrate von *MHP* in der Jagdsaison 2004/2005 lag bei 53,6 %, mit besonders hohen Prävalenzen ($\geq 81,8$ %) in den Bundesländern Baden-Württemberg, Hessen, Thüringen, Sachsen und Nordrhein-Westfalen sowie besonders niedrigen Prävalenzen ($\leq 15,8$ %) im Saarland, in Rheinland-Pfalz und Brandenburg. Die Jagdsaison 2005/2006 war durch einen Abfall der durchschnittlichen Erregerprävalenz auf 37,4 % gekennzeichnet, mit einem sehr hohen Erregervorkommen in Schleswig-Holstein (90,9 %) und ansonsten deutlich niedrigeren Prävalenzen insbesondere in Baden-Württemberg, dem Saarland, Hessen, Sachsen, Sachsen-Anhalt und Mecklenburg-Vorpommern ($\leq 18,2$ %).

Neben wenigen Bundesländern mit stark steigender Tendenz hinsichtlich der Erregerhäufigkeit (Niedersachsen, Brandenburg und Schleswig-Holstein) fielen einige Bundesländern durch deutlich rückläufige Prävalenzen auf (Baden-Württemberg,

Hessen, Sachsen, Nordrhein-Westfalen und Sachsen-Anhalt). Insgesamt betrachtet ging die Nachweisrate von *M. hyopneumoniae* somit zurück (Abb. 16).

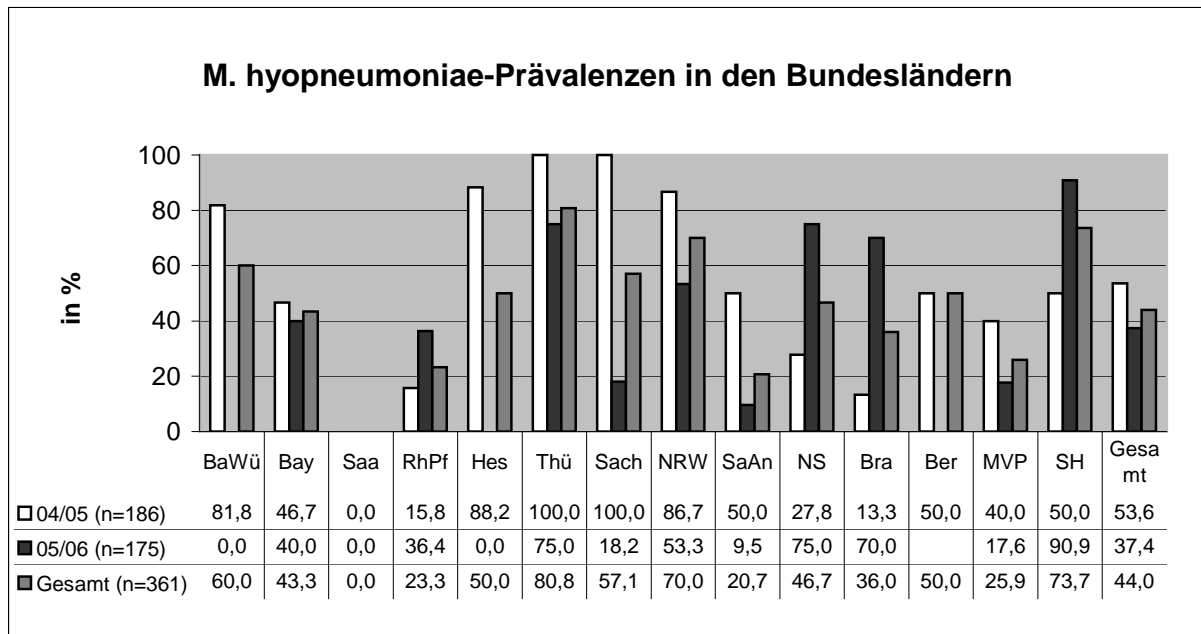


Abbildung 16: Bundesweit ermittelte Prävalenzen für *M. hyopneumoniae* in der Jagdsaison 2004/2005 und 2005/2006.

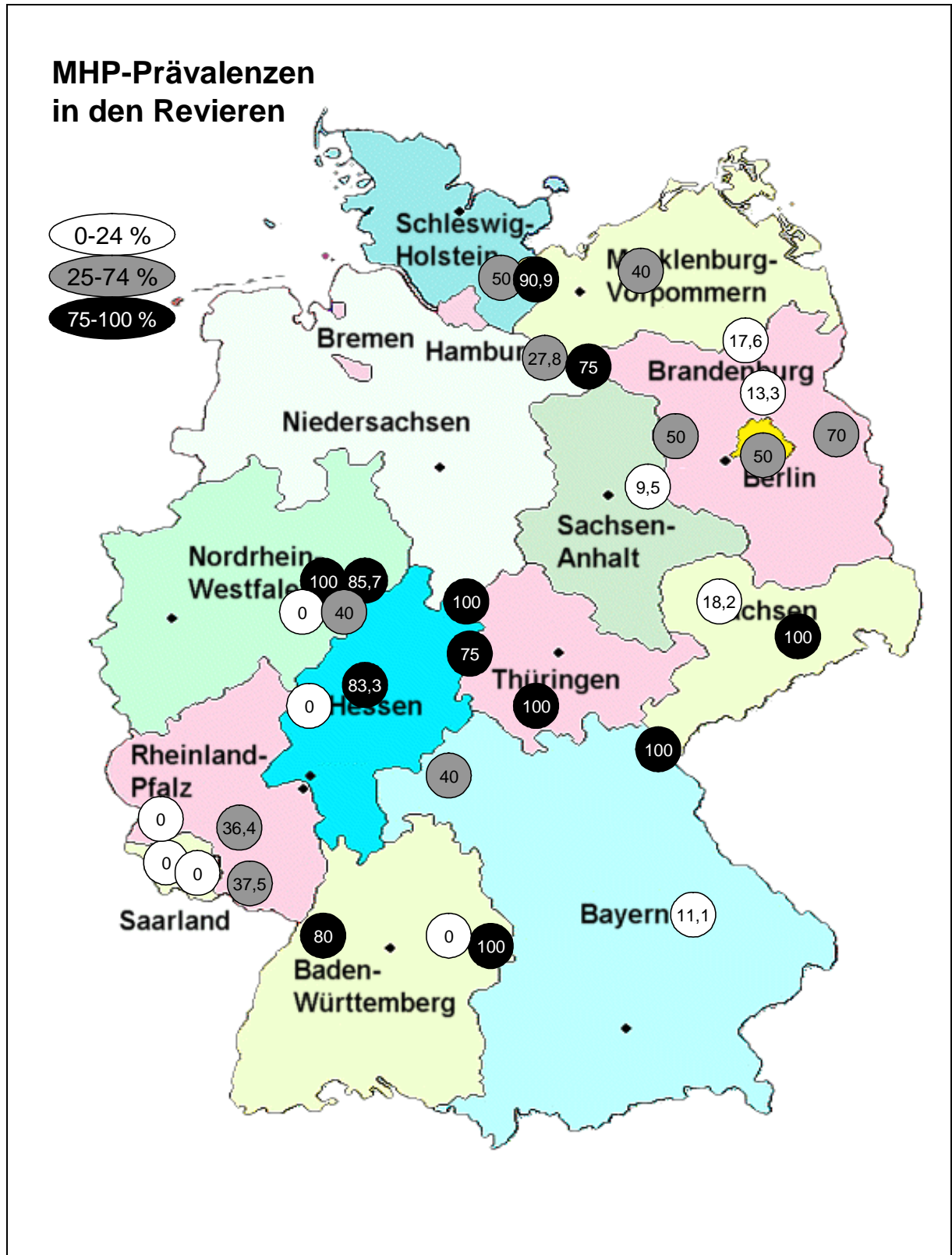


Abbildung 17: Prozentuales Vorkommen von *M. hyopneumoniae* in den untersuchten Revieren (Jagdsaison 2004/2005 und 2005/2006).

4.3.1.2 Gewebeverteilung

M. hyopneumoniae-DNA fand sich in ausgeglichenen Anteilen in Tonsillen- (20,1 %) und in Lungengewebe (26,4 %). Bei 53,5 % der positiven Wildschweine konnte *MHP*-DNA aus Lungen- und Tonsillenproben isoliert werden (Abb. 10, s.o.).

4.3.2 *Actinobacillus pleuropneumoniae*

4.3.2.1 Prävalenzen

Bezogen auf die durchschnittlichen Erregerprävalenzen beider Untersuchungszeiträume ergaben sich für *APP* weit über dem Durchschnitt liegende Werte in Thüringen, Sachsen, Sachsen-Anhalt und Schleswig-Holstein ($\geq 65,4$ %).

In der Jagdsaison 2004/2005 betrug die durchschnittliche Erregerprävalenz 35,1 % und es wurde lediglich in Sachsen eine sehr hohes Erregervorkommen (80 %) für *APP* ermittelt. Besonders niedrige Prävalenzen ($\leq 16,7$ %) ergaben sich hingegen im Saarland, in Rheinland-Pfalz, Hessen, Niedersachsen und Brandenburg. Während der Jagdsaison 2005/2006 stieg die durchschnittliche Prävalenz auf 54,3 % an mit besonders hohen Prävalenzen (≥ 81 %) in Rheinland-Pfalz, Sachsen, Sachsen-Anhalt und Schleswig-Holstein und besonders niedrige Prävalenzen ($\leq 12,5$ %) in Baden-Württemberg, dem Saarland und Hessen.

Während die Bundesländer Rheinland-Pfalz, Sachsen-Anhalt, Niedersachsen, Brandenburg, Mecklenburg-Vorpommern und Schleswig-Holstein einen deutlichen Anstieg der Erregerprävalenz zu verzeichnen hatten, zeigten die übrigen Länder bei den Prävalenzen beider Untersuchungszeiträume ein annähernd ausgeglichenes Bild. Insgesamt lag somit hinsichtlich der Verbreitung von *A. pleuropneumoniae* eine steigende Tendenz vor (Abb. 18).

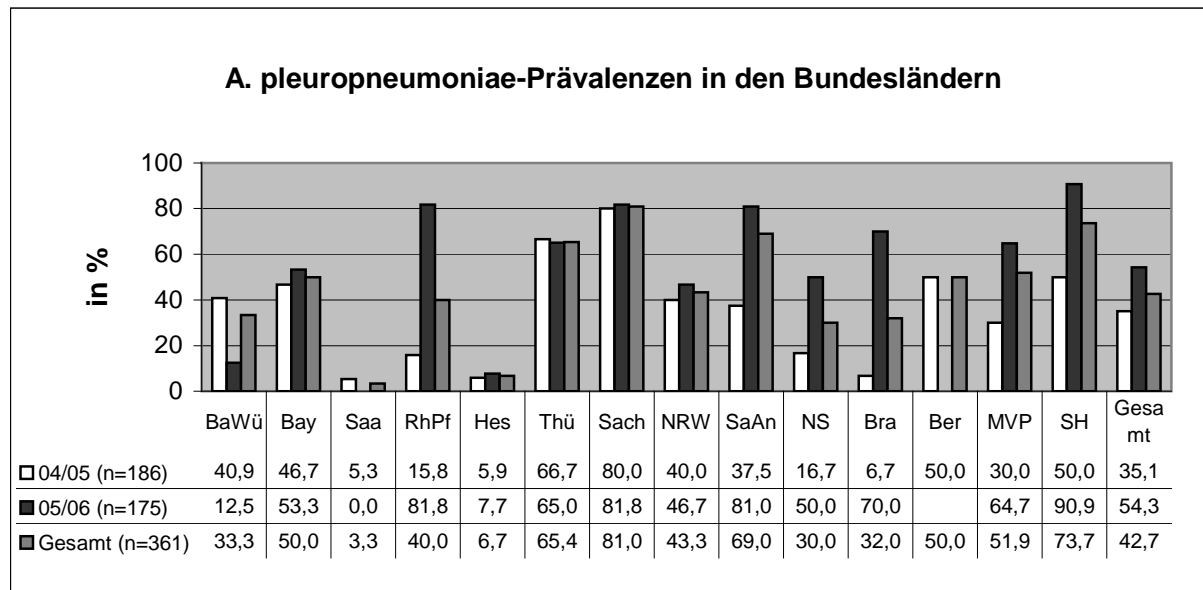


Abbildung 18: Bundesweit ermittelte Prävalenzen für *A. pleuropneumoniae* in der Jagdsaison 2004/2005 und 2005/2006.

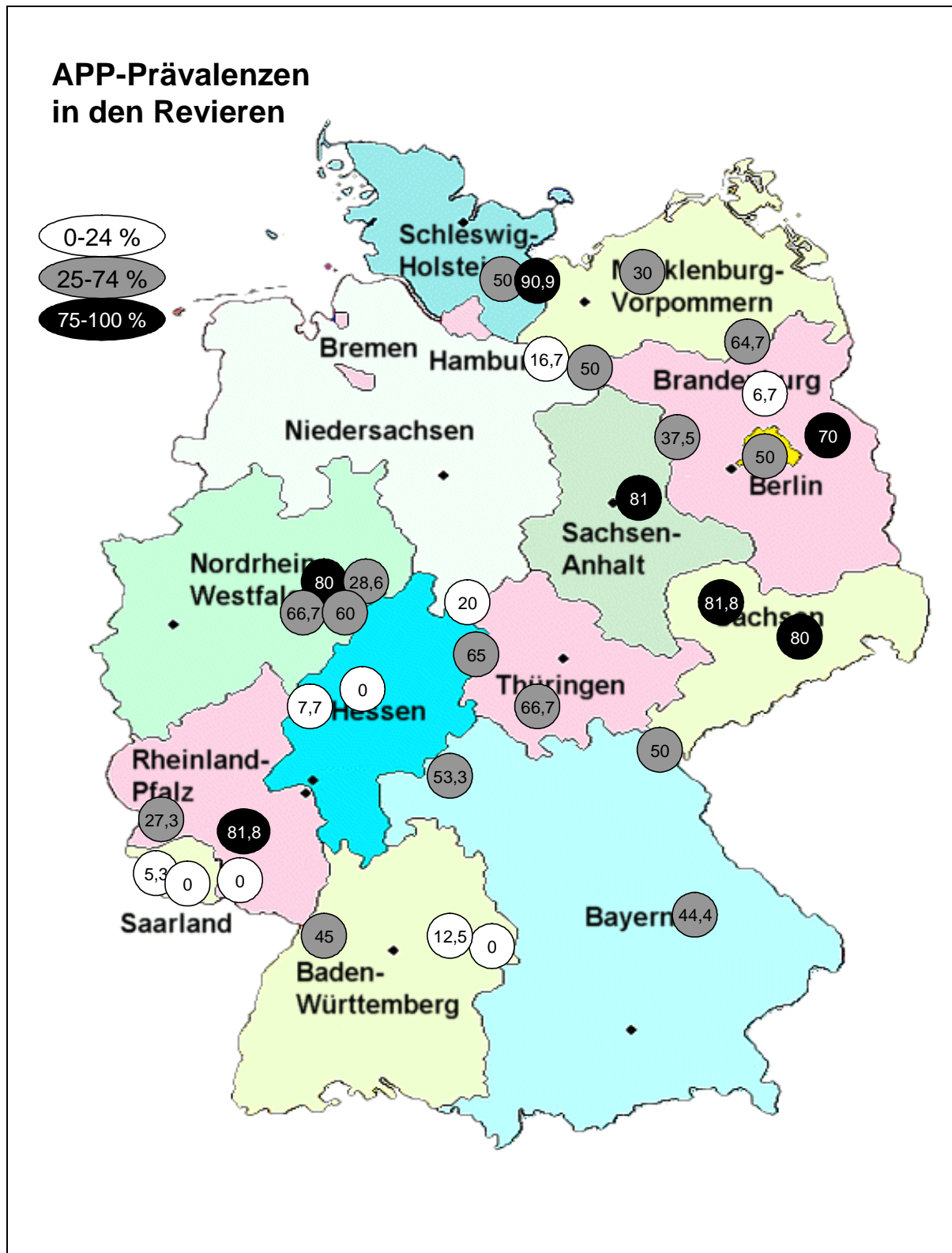


Abbildung 19: Prozentuales Vorkommen von *A. pleuropneumoniae* in den untersuchten Revieren (Jagdsaison 2004/2005 und 2005/2006).

4.3.2.2 Gewebeverteilung

A. pleuropneumoniae-DNA konnte bei 81,2 % der *APP*-positiven Wildschweine ausschließlich aus Tonsillen und bei lediglich 6,5 % ausschließlich aus der Lunge isoliert werden. Dem entsprechend betrug die Nachweisrate für beide Gewebe gleichzeitig nur 12,3 % (Abb. 10, s.o.).

4.3.3 *Haemophilus parasuis*

4.3.3.1 Prävalenzen

Für *H. parasuis* fiel insgesamt eine sehr weite Verbreitung innerhalb Deutschlands auf, mit besonders hohen Nachweisraten in den Bundesländern Bayern, Baden-Württemberg, Mecklenburg-Vorpommern, Schleswig-Holstein, Sachsen und Sachsen-Anhalt (> 81 %).

Die Ergebnisse der Jagdsaison 2004/2005 ließen ein besonders hohes Vorkommen ($\geq 87,5$ %) in den Bundesländern Baden-Württemberg, Bayern, Thüringen, Mecklenburg-Vorpommern und Schleswig-Holstein erkennen, während die niedrigsten Prävalenzen mit Werten zwischen 13,3 und 26,3 % im Saarland, in Brandenburg und Berlin festgestellt wurden. Die Nachweisraten für die Jagdsaison 2005/2006 lagen, das Saarland und Thüringen ausgenommen, bei allen untersuchten Bundesländern über 84 %, wobei sieben Bundesländer auf 100 % und weitere vier auf über 90 % Erregerprävalenz kamen.

Insgesamt erfolgte ein Anstieg der durchschnittlichen Erregerhäufigkeit von 59,7 % in der Jagdsaison 2004/2005 auf 90,5 % in der Jagdsaison 2005/2006. Während *HPS* in Baden-Württemberg, Bayern, Mecklenburg-Vorpommern und Schleswig-Holstein bereits im ersten Untersuchungszeitraum weit verbreitet war, kam es in fast allen anderen Bundesländern zu einer starken Erregerzunahme. Nur in Thüringen konnte eine Abnahme der Erregerhäufigkeit von 100 auf 55 % beobachtet werden (Abb. 20).

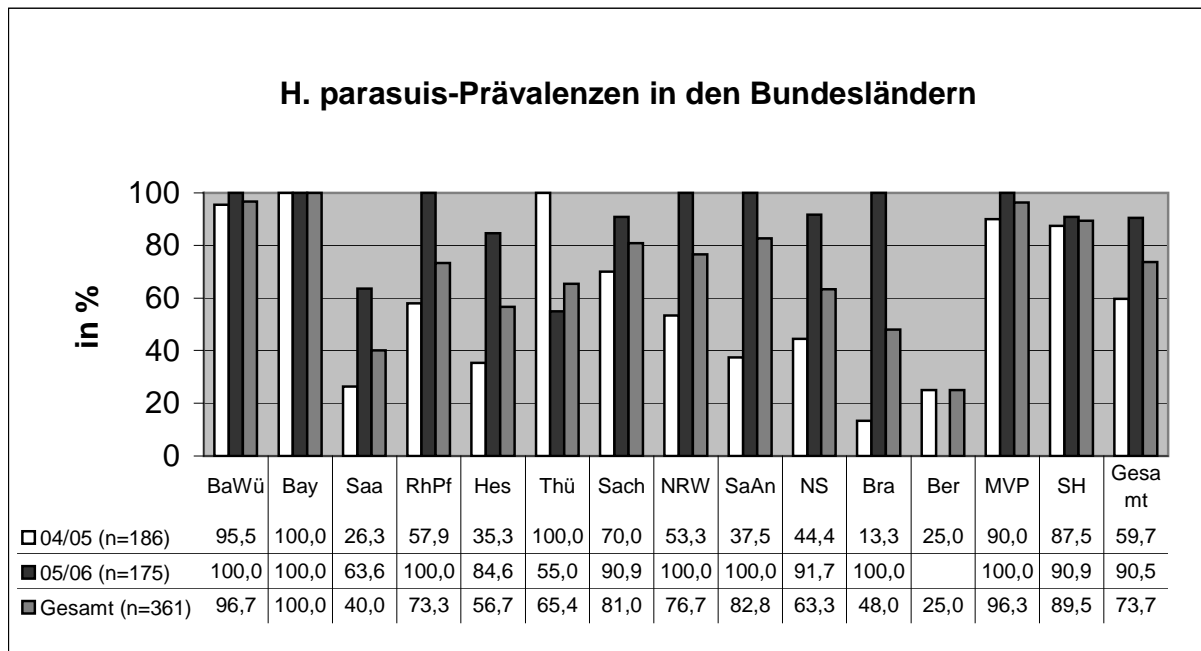


Abbildung 20: Bundesweit ermittelte Prävalenzen für *H. parasuis* in der Jagdsaison 2004/2005 und 2005/2006.

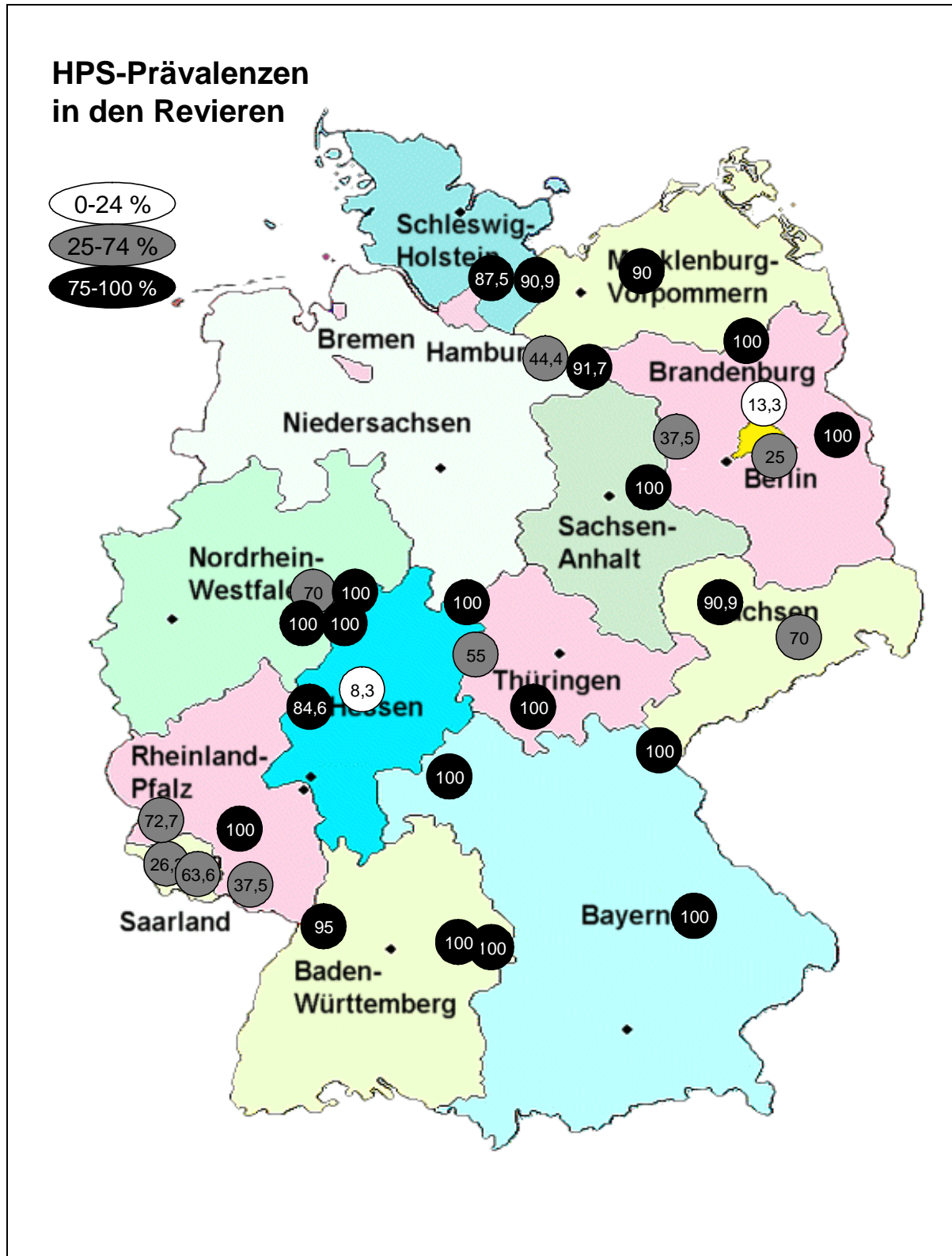


Abbildung 21: Prozentuales Vorkommen von *H. parasuis* in den untersuchten Revieren (Jagdsaison 2004/2005 und 2005/2006).

4.3.3.2 Gewebeverteilung

Ähnlich wie für *A. pleuropneumoniae* konnte für *H. parasuis* mit 41,6 % *HPS*-DNA positiven Tonsillenproben und 6,3 % *HPS*-DNA positiven Lungenproben eine stärkere Erreger-Präsenz in den Tonsillen festgestellt werden. Anders als bei *APP* wies jedoch über die Hälfte der positiven Wildschweine (52,2 %) *HPS*-DNA sowohl in Tonsillen als auch in der Lunge auf (Abb. 10, s.o.).

4.3.4 α -hämolyisierende Streptokokken

4.3.4.1 Prävalenzen

Eine insgesamt weite Verbreitung innerhalb Deutschlands konnte für α -hämolyisierende Streptokokken nachgewiesen werden. Neben einer durchschnittlichen Prävalenz von 58,4 % ergaben sich insbesondere in Bayern, Rheinland-Pfalz, Niedersachsen, Thüringen und Berlin hohe Nachweisraten von 69,2 % und mehr.

Bezogen auf den ersten Untersuchungszeitraum lagen besonders hohe Prävalenzen ($\geq 83,3$ %) in den Bundesländern Bayern, Saarland, Rheinland-Pfalz, Thüringen, Niedersachsen und Mecklenburg-Vorpommern vor, wobei auch die übrigen untersuchten Bundesländer Werte zwischen 40 und 75 % erreichten. Obwohl im zweiten Untersuchungszeitraum maximale Erregerprävalenzen von 100 % in Bayern, Rheinland-Pfalz und Niedersachsen ermittelt wurden, ging das Erregervorkommen insgesamt deutlich zurück, mit sehr niedrigen Werten im Saarland, in Sachsen, Sachsen-Anhalt und Mecklenburg-Vorpommern ($\leq 18,2$ %).

In der Jagdsaison 2004/2005 lag das durchschnittliche Vorkommen von α -hämolyisierenden Streptokokken bei 75,9 % und fiel ein Jahr später auf 46,5 % ab. Deutliche Schwankungen bezüglich der Prävalenzen von α -hämolyisierenden Streptokokken ergaben sich innerhalb der zwei Untersuchungszeiträume insbesondere für das Saarland, Sachsen-Anhalt und Mecklenburg-Vorpommern, aber auch für

Thüringen. Bei den erwähnten Ländern war der Rückgang der Erregerprävalenz besonders auffällig. Zu beachten ist, dass aus den Bundesländer Nordrhein-Westfalen und Berlin nur Proben aus einer Jagdsaison in die bakteriologische Untersuchung eingingen, und somit ein Vergleich beider Untersuchungszeiträume hier nicht möglich war (Abb. 22).

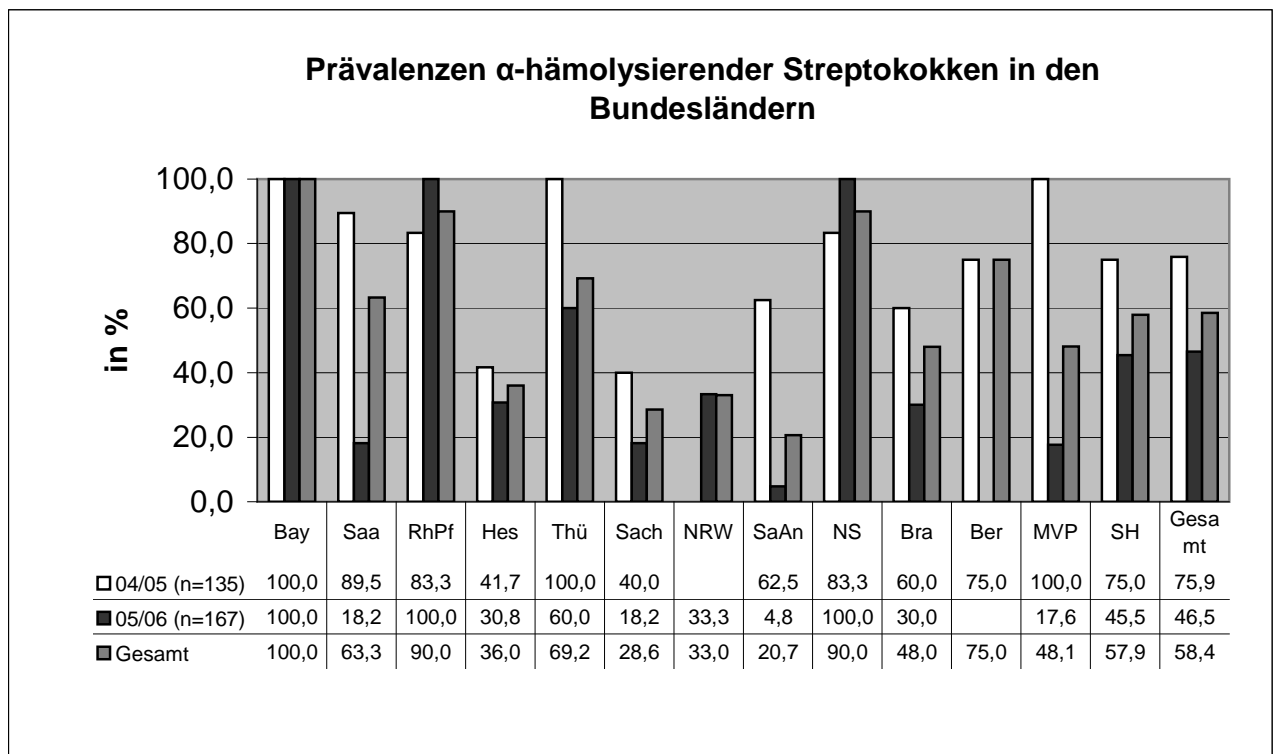


Abbildung 22: Bundesweit ermittelte Prävalenzen für α -hämolisierende Streptokokken in der Jagdsaison 2004/2005 und 2005/2006.

Prävalenzen α -häm. Streptokokken in den Revieren

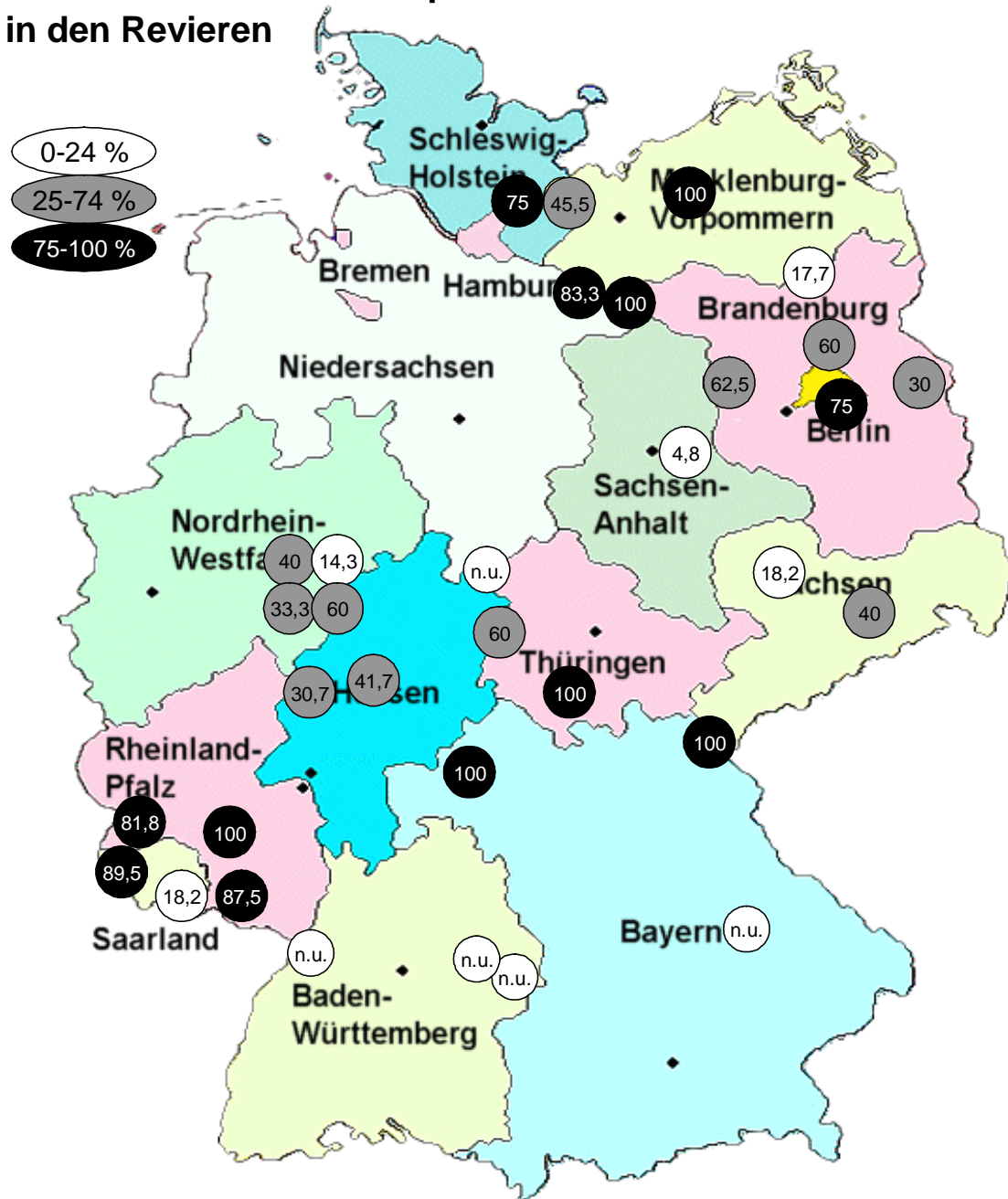


Abbildung 23: Prozentuales Vorkommen von α -hämolyisierenden *Streptokokken* in den untersuchten Revieren (Jagdsaison 2004/2005 und 2005/2006; n.u. = nicht untersuchte Reviere).

4.3.5 *Pasteurella multocida*

4.3.5.1 Prävalenzen

Auch *P. multocida* zeigte eine flächendeckende Verbreitung. Hier betrug die durchschnittliche Erregerprävalenz 32,2 %, mit einem gehäuften Erregervorkommen in Thüringen, Nordrhein-Westfalen und Sachsen ($\geq 47,6$ %).

Die durchschnittliche Prävalenz der Bundesländer stieg während der beiden Untersuchungszeiträume von insgesamt 14,9 % auf 46,5 % an. Während in der Jagdsaison 2004/2005 lediglich in Thüringen ein weit überdurchschnittliches Erregervorkommen von 50 % zu verzeichnen war, kamen die Bundesländer Rheinland-Pfalz, Thüringen, Sachsen und Nordrhein-Westfalen in der Jagdsaison 2005/2006 auf Werte von 60 - 80 %. Besonders niedrige Werte von 0 - 5,6 % wurden im Winter 2004/2005 in Sachsen-Anhalt, Niedersachsen, Brandenburg, Berlin und dem Saarland ermittelt, während im Winter 2005/2006 nur das Saarland mit einer sehr geringen Prävalenz von 9,1 % auffiel (Abb. 24).

Die in allen untersuchten Bundesländern (mit Ausnahme von Nordrhein-Westfalen und Berlin) festgestellte Zunahme der Erregerhäufigkeit, war besonders in Rheinland-Pfalz, Sachsen und Sachsen-Anhalt zu beobachten. Es muss jedoch beachtet werden, dass aus den Bundesländern Nordrhein-Westfalen und Berlin nur Proben aus einer Jagdsaison in die bakteriologische Untersuchung eingingen, und somit ein Vergleich beider Untersuchungszeiträume hier nicht möglich war.

Die mittels PCR durchgeführte Differenzierung zwischen toxinbildenden und nicht toxinbildenden *P. multocida*-Stämmen ergab keinen Hinweis auf das Vorliegen toxinbildender Stämme (Daten nicht dargestellt).

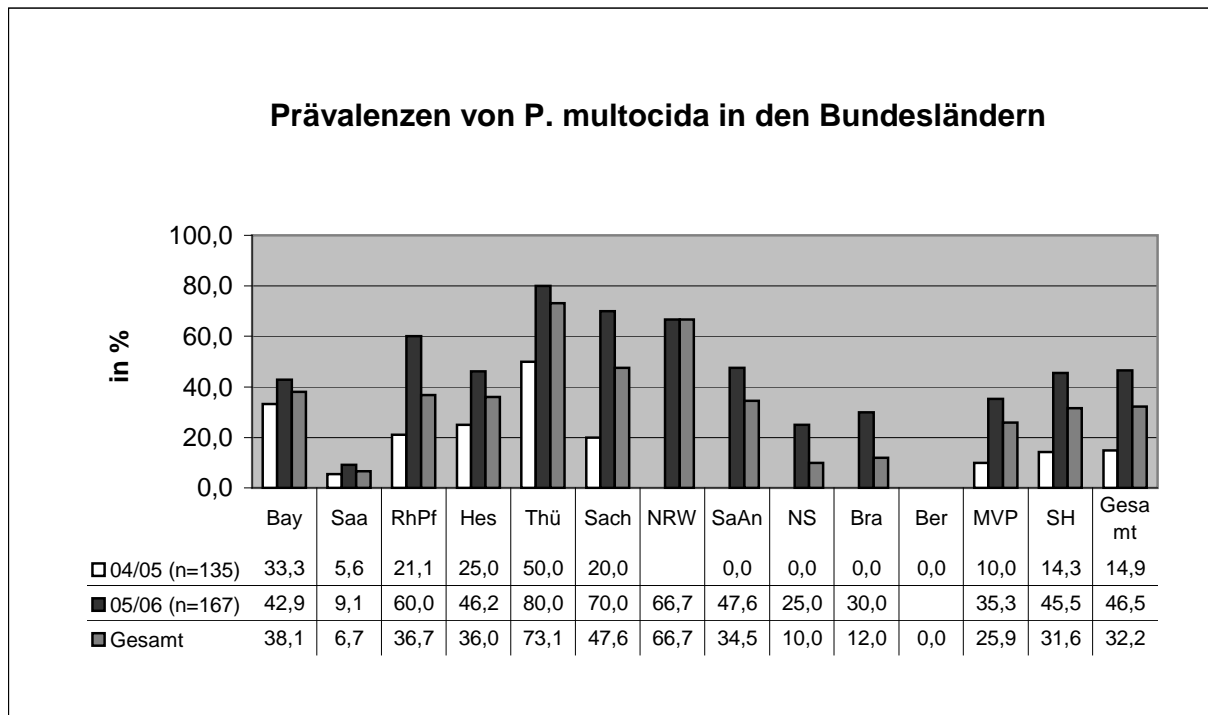


Abbildung 24: Bundesweit ermittelte Prävalenzen für *P. multocida* in der Jagdsaison 2004/2005 und 2005/2006.

P. multocida-Prävalenzen In den Revieren

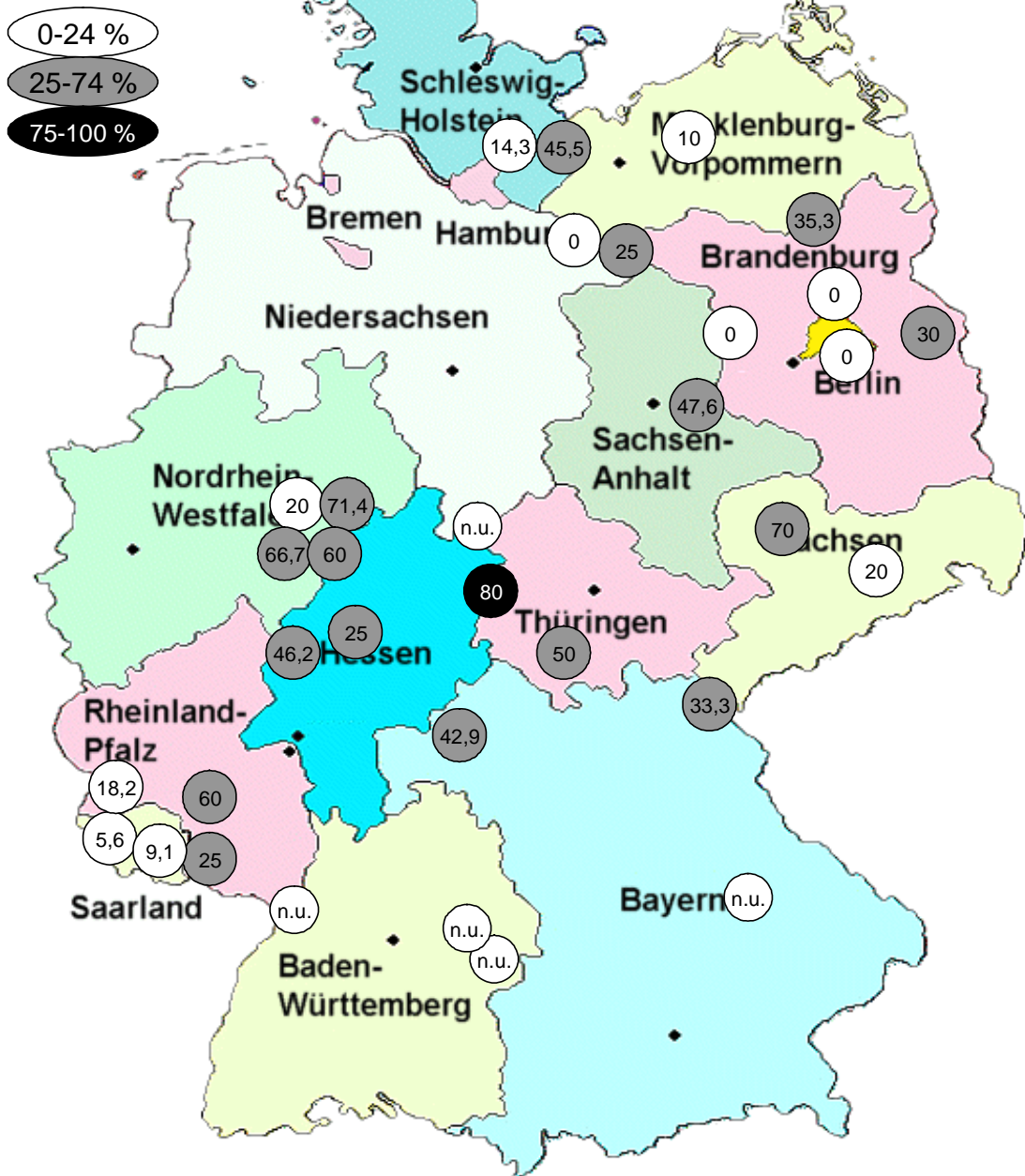


Abbildung 25: Prozentuales Vorkommen von *P. multocida* in den untersuchten Revieren (Jagdsaison 2004/2005 und 2005/2006; n.u. = nicht untersuchte Reviere).

4.3.6 *Bordetella bronchiseptica*

4.3.6.1 Prävalenzen

Ein Nachweis von *B. bronchiseptica* gelang nur in Rheinland-Pfalz in der Jagdsaison 2005/2006 mit einer Häufigkeit von 9,1 % (Daten nicht dargestellt).

5. Diskussion

Bei der Untersuchung von Infektionskrankheiten bei Wildschweinen ist zu berücksichtigen, dass bezüglich epizootischer Prozesse zwischen Haustier- und Wildtierpopulationen entscheidende Unterschiede bestehen, denn frei lebende Wildtiere sind im Vergleich zu Haustieren völlig anderen Lebensbedingungen ausgesetzt. Reservoirfunktionen und Übertragungsvorgänge werden hier maßgeblich durch biologische Lebensrhythmen und eine Reihe von Umweltbedingungen, wie Wildtierdichte, Nahrungsangebot und Ruhezone sowie klimatische Bedingungen bestimmt. So können innerhalb von Wildtierpopulationen eigenständige epizootische Prozesse ablaufen, oder das Wild kann Element epizootischer Vorgänge im Haustierbereich sein (Karge, 1994). Beide Varianten kommen beim Wildschwein vor und sind im Fall der beiden anzeigepflichtigen Tierseuchen Aujeszky'sche Krankheit und Klassische Schweinepest recht ausführlich beschrieben. Obwohl die deutschen Hausschweinbestände durch die Europäische Kommission als AK-frei eingestuft wurden (Commission Decision, 2003/130/EC, 2003), breitet sich die Infektion innerhalb der Wildschweinpopulationen aus und scheint dort autonom zu verlaufen (Müller et al., 1998, 2000; Albina et al., 2000; Lutz et al., 2003). Bei der Klassischen Schweinepest hingegen spielen Wildschweine eine große Rolle als Virusreservoir und Krankheitsüberträger auf Hausschweinbestände (Artois et al., 2002; Laddomada, 2000; De Vos et al., 2004). Serologische Untersuchungen bei Wildschweinen konnten auch Antikörper gegen einige respiratorischen Krankheitserreger nachweisen. Es gibt jedoch kaum Berichte über einen direkten Erregernachweis oder gar die Beobachtung klinischer Erkrankungen bei Wildschweinen.

Ziel der vorliegenden Arbeit war, das Vorkommen von Infektionen mit respiratorischen Krankheitserregern bei Wildschweinen in unterschiedlichen Regionen Deutschlands zu untersuchen. Hierzu wurden zwei Methoden zum direkten Erregernachweis angewandt. Für *PRRSV*, *Influenzavirus A*, *M. hyopneumoniae*, *A. pleuropneumoniae* und *H. parasuis* erfolgte zunächst eine RNA bzw. DNA-Isolierung aus Tonsillen- und Lungengewebe, um anschließend mittels PCR entsprechende Erreger-spezifische

Nukleotidabschnitte zu amplifizieren. Der Nachweis von *α -hämolyisierenden Streptokokken*, *P. multocida* und *B. bronchiseptica* wurde hingegen durch kulturellen Erregernachweis aus Tonsillenproben erbracht.

Des Weiteren erfolgte eine Auswertung der prozentualen Verteilung der untersuchten Viren und Bakterien auf Tonsillen- und Lungengewebe bei den positiv getesteten Wildschweinen mit dem Ziel, den Infektionsstatus der Tiere zu diversifizieren.

Zuletzt wurden zwei als europäisches bzw. amerikanisches *PRRSV* identifizierte PCR-Amplifikate ausgewählt, um mit dem Lelystadvirus und dem amerikanischen Impfvirusstamm 'Ingelvac PRRS' auf der Grundlage des ORF 1 einen Homologie-Vergleich durchzuführen. Ziel dieser Untersuchung war, die Sequenzen als *PRRSV*-spezifisch zu bestätigen, die Variabilität der Wildschweinisolat zu dem Lelystadvirus und dem Impfvirus zu ermitteln und die Wildschweinisolat mit bekannten europäischen bzw. amerikanischen *PRRSV*-Sequenzen von Hausschweinen zu vergleichen.

5.1 Prävalenzen

Prävalenzuntersuchungen für respiratorische Krankheitserreger bei Wildschweinen sind selten. Von den wenigen Untersuchungen wurden einige in Deutschland durchgeführt, während weitere Studien aus Spanien, Litauen und den USA vorliegen. Für gewöhnlich handelt es sich dabei um serologische Untersuchungen, was die Vergleichbarkeit mit den eigenen Untersuchungsergebnissen weiter einschränkt. Für die eigenen Untersuchungen gilt, dass im Gegensatz zum *PRRSV* und *Influenzavirus A* die bakteriellen respiratorischen Krankheitserreger insgesamt weit häufiger in beiden Jagdsaisons nachgewiesen wurden. Der Vergleich der Ergebnisse von 2004/2005 und 2005/2006 sollte mit der Einschränkung betrachtet werden, dass in den beiden Untersuchungszeiträumen nur drei Reviere ein zweites Mal beprobt wurden und die Reviere eines Bundeslandes in der Regel relativ weit voneinander entfernt lagen. Die eigenen Ergebnisse unterstreichen, dass sich, wie bereits aus früheren Untersuchungen bekannt, Erregerprävalenzen selbst in benachbarten Wildschweinpopulationen deutlich unterscheiden können (Verkühlen, 2005; Knell, 2007).

5.1.1 *PRRSV*

Die durchschnittlichen Erregerprävalenzen für beide Untersuchungszeiträume betrugen 5,5 % für das europäische bzw. 3,6 % für das amerikanische *PRRSV*. Oslage et al. (1994) konnten im Winter 1991/1992 in Sachsen-Anhalt trotz eines massiven Seuchengeschehens in der Hausschweinpopulation lediglich bei zwei von 482 Wildschwein-Serumproben Antikörper gegen das *PRRSV* nachweisen, was einer Seroprävalenz von 0,4 % entspricht. Die Autoren schlussfolgerten aus ihren Untersuchungen, dass epidemiologisch wichtige regionale Faktoren wie die Wildschweindichte, die Nähe von Hausschweinbeständen zu frei lebenden Wildschweinen sowie der Einsatz von Lebendvirusimpfstoffen allein keine erhöhte Gefahr der Virusübertragung zwischen Haus- und Wildschweinen mit sich bringen. Lutz und Wurm (1996) untersuchten in den Wintern 1992/1993 bis 1995/1996 in Nordrhein-Westfalen und Rheinland-Pfalz 768 Blutserumproben von Schwarzwild u.a. auf Antikörper gegen das *PRRSV*, wobei die Ergebnisse bei allen Serumproben negativ ausfielen. Demnach scheinen Wildschweinpopulationen, unabhängig von der weiten Erregerverbreitung in Hausschweinebeständen, nur sporadisch von Infektionen mit dem *PRRSV* betroffen zu sein. Diese Vermutung wird zum einen durch den räumlich, wie auch durch den zeitlich beschränkten *PRRSV*-Nachweis der eigenen Untersuchung bestätigt. So ergab sich ein Genomnachweis für das *PRRSV* lediglich in einigen Revieren und ausschließlich in der Jagdsaison 2004/2005, mit höheren Prävalenzen für die nördlichen Bundesländer Schleswig-Holstein, Mecklenburg-Vorpommern, Niedersachsen und Brandenburg (europäisches *PRRSV* mit 27,8 bis 50 %; amerikanisches *PRRSV* mit 25 bis 33,3 %) und niedrigeren Prävalenzen für die südlichen Bundesländer Baden-Württemberg (europäisches und amerikanisches *PRRSV* mit je 4,5 %) und das Saarland (europäisches *PRRSV* mit 5,3 %). Die im Winter 2004/2005 für *PRRSV*-Genom positiv getesteten Reviere 5, 14 und 18 erwiesen sich ein Jahr später wieder als negativ. Anhand experimenteller Untersuchungen zum Vorkommen einer Virus-Persistenz konnte bei einzelnen intrauterin infizierten Schweinen mittels PCR bis maximal 210 Tage p.i. *PRRSV*-RNA im Serum nachweisen werden. Das Virus erwies sich in einem weiteren Versuch als infektiös (Benfield et al.,

1997). Wills et al. (1997c) gelang die Isolation von PRRS-Virus aus Tonsillengewebe von experimentell infizierten Schweinen bis zum 157 Tag p.i.. Diese Untersuchungen wie auch die eigenen Ergebnisse bestätigen, dass die Infektion, obwohl sie über Monate bestehen kann, beim Wildschwein zeitlich begrenzt zu sein scheint.

5.1.2 *Influenzavirus A*

Ähnlich niedrig wie für *PRRSV* fielen auch die durchschnittlichen Erregerprävalenzen für *Influenzavirus A*, mit 6,4 % bezogen auf beide Untersuchungszeiträume, aus. Dabei lag das durchschnittliche Erregervorkommen in der Saison 2004/2005 bei 10,3 %, während in der Saison 2005/2006 lediglich ein Wert von 1,7 % ermittelt wurde. Wie bei *PRRSV* beschränkte sich das Erregervorkommen von *Influenzavirus A* insbesondere auf die nördlichen und südlichen Bundesländer, mit niedrigen Prävalenzen (< 13,6 %) in Rheinland-Pfalz, Bayern, Saarland und Baden-Württemberg und hohen Prävalenzen (33,3 % und 40 %) in Brandenburg und Niedersachsen. Mecklenburg-Vorpommern und Schleswig-Holstein lagen mit 20 % und 25 % im mittleren Prävalenzbereich.

Für Deutschland existieren bislang keine Ergebnisse zum Vorkommen von *Influenzavirus A* bei Wildschweinen. Jedoch wurden in verschiedenen europäischen Ländern für die Subtypen H1N1, H2N3 und H1N2 Seroprävalenz von 1 – 24,1 % ermittelt (Vicente et al., 2002; Markowska-Daniel & Pejsak, 1999; Markowska-Daniel, 2003). Dabei ist zu beachten, dass der Nachweis neutralisierender Antikörper gegen das Virus, abhängig vom Testsystem, frühestens sieben Tage p.i. über einen Zeitraum von mindestens fünf bis sechs Monaten möglich ist (Easterday, 1972; Charley, 1977; Brown et al., 1993). Die schnelle Virus-Elimination durch das Immunsystem im Anschluss an eine Infektion und die damit verbundene kurze Virusausscheidung über ein bis zwei Wochen p.i. (Choi et al., 2004), erlaubt einen direkten Erregernachweis nur innerhalb eines sehr engen Zeitfensters, was vermutlich die Erklärung für die hier ermittelten niedrigen *Influenzavirus A*-Prävalenzen ist. Der sowohl räumlich auf einige nördliche und südliche Bundesländer, als auch zeitlich innerhalb der Reviere auf die Saison 2004/2005 oder 2005/2006 begrenzte Erregernachweis spricht für ein eher sporadisches Auftreten von *Influenzavirus A*-Infektionen/Krankheitsausbrüchen bei

Wildschweinen. Obwohl weder die früheren serologischen noch die eigenen Untersuchungen eine konkrete Aussage über die tatsächliche Häufigkeit von *Influenzavirus A*-Infektionen bei Wildscheinen zulassen, zeigen die Ergebnisse, dass das Virus in Wildschweinpopulationen durchaus präsent ist.

5.1.3 *Mycoplasma hyopneumoniae*

Von der Jagdsaison 2004/2005 auf die Jagdsaison 2005/2006 fiel die durchschnittliche Erregerprävalenz für die untersuchten Bundesländer von 53,6 auf 37,4 % ab. Die für beide Untersuchungszeiträume ermittelte Prävalenz von 44,0 % zeigt die weite Verbreitung des Erregers in deutschen Wildschweinpopulationen. Von deutschen Hausschweinbeständen ist bekannt, dass ein großer Anteil der Herden mit *M. hyopneumoniae* infiziert ist (Berner, 1995; Pfützner & Blaha, 1995; Horst et al., 1997). Da der Erreger über 3 km mit dem Wind verschleppt werden kann und das Infektionsrisiko mit einer hohen Schweinedichte im Bestand bzw. in der Region steigt (Ross, 1999; Maes et al., 2000; Hege et al., 2002), erscheint eine Übertragung von *M. hyopneumoniae* von Haus- auf Wildschweine insbesondere in solchen Gebieten als wahrscheinlich.

Einige Bundesländer fielen durch ihre besonders hohen oder besonders niedrigen *MHP*-Prävalenzen auf. Unter Berücksichtigung beider Untersuchungszeiträume lagen die Erregerprävalenzen in Thüringen, Nordrhein-Westfalen und Schleswig-Holstein weit über (≥ 70 %) und im Saarland, in Rheinland-Pfalz, Sachsen-Anhalt und Mecklenburg-Vorpommern weit unter dem Durchschnitt ($\leq 25,9$ %). Die Vermutung, dass die Hausschweindichte auf das Erregervorkommen in benachbarten Wildschweinpopulationen einen Einfluss haben könnte, konnte nicht eindeutig nachgewiesen werden.

Neben den eigenen Untersuchungen gibt es derzeit keine Veröffentlichungen über den direkten Nachweis von *M. hyopneumoniae* bei Wildschweinen. Die längste

Nachweisdauer des Erregers nach experimenteller Infektion von Hausschweinen betrug 185 Tage (Fano et al., 2004). Laut Done (1996) bewirkt die Immunreaktion im Anschluss an eine Infektion zwar eine deutliche Reduktion der Erregerausscheidung, jedoch keine vollständige Erregereliminierung. In Europa haben sich bislang zwei Seroprävalenzstudien mit dem Nachweis von *MHP*-Antikörpern aus Wildschweinseren befasst. Bei 78 in Spanien im Winter 1999/2000 erlegten Wildschweinen konnten Vicente et al. (2002) keine Antikörper gegen *M. hyopneumoniae* im Serum der Tiere feststellen. Vengust et al. (2006) gelang in der Jagdsaison 2003/2004 in Slowenien hingegen der Nachweis bei 21 % von 178 geschossenen Wildschweinen. In beiden Untersuchungen wurde der Erregernachweis mittels ELISA durchgeführt. Die Tatsache, dass bei einer schwachen Mykoplasmen-Infektion eine Immunreaktion ausbleiben kann (Howard & Taylor, 1985), macht den Test zusätzlich anfällig für das Auftreten falsch negativer Ergebnisse.

5.1.4 *Actinobacillus pleuropneumoniae*

Im Gegensatz zu dem bei *M. hyopneumoniae* festgestellten Rückgang der bundesweiten durchschnittlichen Prävalenz konnte für *A. pleuropneumoniae* ein Anstieg von 35,1 % in der Jagdsaison 2004/2005 auf 54,3 % in der Jagdsaison 2005/2006 verzeichnet werden. Insgesamt ergab sich daraus eine Prävalenz von 42,7 %, was bezogen auf die Wildschweinpopulation als unerwartet hohes Erregervorkommen zu bewerten ist. *A. pleuropneumoniae* ist ein hoch kontagiöser Erreger und wird v.a. durch direkten Kontakt übertragen. Zudem bleiben Tiere nach Überleben einer akuten Erkrankung Keimträger, bei denen *APP* in der Regel aus Tonsillen und nekrotischem Lungengewebe isoliert werden kann (Taylor, 1999). Die weite Verbreitung von *APP* unter Wildschweinen erklärt sich möglicherweise durch die Sozialstruktur der Wildschweinpopulationen. Sie kann die Ausbreitung von Infektionskrankheiten begünstigen, da innerhalb einer sozialen Gruppe, ebenso wie beim Zusammentreffen verschiedener Gruppen an künstlichen Futter- und Wasserstellen, der Kontakt unter den Tieren sehr hoch ist (Vicente et al., 2004, 2005).

Den eigenen Ergebnissen nach war *A. pleuropneumoniae* in den Bundesländern Thüringen, Sachsen, Sachsen-Anhalt und Schleswig-Holstein besonders stark vertreten ($\geq 65,4$ %). Das Saarland und Hessen fielen hingegen durch sehr niedrige Prävalenzen auf ($\leq 6,7$ %). Ein eindeutiger Hinweis auf den Einfluss der Hausschweinedichte in den jeweiligen Bundesländern ergab sich jedoch nicht. Hinsichtlich der Verbreitung von *APP* bei Hausschweinen zeigten vergleichende serologische Untersuchungen in den Niederlanden, dass *A. pleuropneumoniae* in Gebieten mit hoher Schweinedichte signifikant weiter verbreitet ist als in Regionen mit niedriger Schweinedichte (Elbers et al., 1990). Eine aerogene Übertragung zwischen benachbarten Herden konnte zwar anhand von Felduntersuchungen als mögliche Verbreitungsursache identifiziert werden (Fussing et al., 1998), scheint jedoch nur selten und nur über kurze Entfernungen zu erfolgen. Die Erregerübertragung über die Luft zwischen Haus- und Wildschweinen kann allerdings nicht ausgeschlossen werden.

Auch bezüglich *A. pleuropneumoniae* existieren bislang keine Veröffentlichungen über einen direkten Erregernachweis beim Wildschwein. Die bereits erwähnten Seroprävalenzstudien von Vicente et al. (2002) und Vengust et al. (2006) kamen beim Antikörpernachweis gegen *APP* auf unterschiedliche Ergebnisse. Während die von Vicente et al. (2002) durchgeführte KBR bei allen Serumproben negativ ausfiel, wies der ELISA von Vengust et al. (2006) bei 52 % der Serumproben Antikörper gegen *A. pleuropneumoniae* nach. Da subklinische Infektionen des oberen Respirationstraktes nicht immer mit einer Produktion von Antikörpern einhergehen (Kume et al., 1984; Møller et al., 1993; Sidibé et al., 1993; Chiers et al., 2002), besteht auch hier die Möglichkeit falsch negativer Ergebnisse.

5.1.5 *Haemophilus parasuis*

Auch bei *H. parasuis* erfolgte ein Anstieg der durchschnittlichen Erregerhäufigkeit von 59,7 % in der Jagdsaison 2004/2005 auf 90,5 % in der Jagdsaison 2005/2006.

Insgesamt betrug die Prävalenz für Deutschland 73,7 %. Das unterstreicht die enorm weite Verbreitung des Erregers in den untersuchten Revieren und vermutlich auch in der gesamten Wildschweinpopulation. Während die Prävalenzen für *H. parasuis* in Baden-Württemberg, Bayern, Mecklenburg-Vorpommern und Schleswig-Holstein bereits im ersten Untersuchungszeitraum sehr hoch waren, kam es in fast allen anderen Bundesländern in der Jagdsaison 2005/2006 zu einer starken Erregerzunahme. Auf dem Hausschweinsektor wird seit einigen Jahren weltweit eine deutliche Zunahme von *H. parasuis* beobachtet (López et al., 2004; Müller et al., 2004; Oliveira & Pijoan, 2004), die neben den intensiven Haltungsbedingungen auch auf die Ko-Infektion mit Erregern, wie dem *PRRSV* oder dem *PCV 2* zurückgeführt wird (Oliveira & Pijoan, 2002, 2004). Andererseits zählt *H. parasuis* zum physiologischen Keimspektrum des oberen Respirationstraktes (Kielstein et al., 1994; Oliveira & Pijoan, 2004) und kann bei neugeborenen Ferkeln bereits wenige Stunden nach der Geburt im oberen Respirationstrakt nachgewiesen werden (Pijoan & Oliveira, 2003). Eine Erregerinteraktion zwischen *A. pleuropneumoniae* und anderen Erregern konnte im Rahmen der eigenen Ergebnisse nicht nachgewiesen werden.

Welche klinische Bedeutung der Erreger bei Wildschweinen hat, kann anhand der eigenen Untersuchungen nicht beantwortet werden. In der Schweineproduktion sind es jedoch oftmals High-health-status- oder SPF-Betriebe, die stärker von Erkrankungen durch *H. parasuis* betroffen sind (Rapp-Gabrielson, 1999; Vos, 2004). Die frühe Auseinandersetzung mit dem Erreger scheint eine große Rolle bezüglich der Immunität gegenüber *H. parasuis* zu spielen. Ferkel, bei denen im jungen Alter unter dem Schutz maternalen Antikörper eine Schleimhautbesiedlung mit virulenten *H. parasuis*-Sämlingen stattfindet, bilden mit dem Schwinden der maternalen Antikörper eine solide aktive Immunität aus, während Ferkel, bei denen in dieser Phase eine Schleimhautbesiedlung ausbleibt, mit dem Absinken der maternalen Antikörper hoch empfänglich für eine systemische Infektion werden (Oliveira & Pijoan, 2004). Aufgrund des hohen Kontaktes innerhalb der Wildschweinpopulation, infizieren sich Frischlinge vermutlich bereits früh mit *H. parasuis*, was nach den oben aufgeführten Annahmen eine gute Immunitätsausbildung zur Folge haben müsste. Zudem stellt sich die Frage nach der

Virulenz von *H. parasuis*-Wildschweinisolat. Eine von Olvera et al. (2007) nach Abschluss der eigenen Arbeiten durchgeführte Untersuchung beschreibt die Isolierung von 2 verschiedenen *H. parasuis*-Stämmen und weiteren NAD-abhängigen Pasteurellaceae (*A. minor* und *A. indolicus*) aus Nasentupfern von 42 erlegten Wildschweinen. Auf Basis der Genotypisierung beider *H. parasuis*-Stämme wurden diese als nicht virulent eingestuft, mit der Vermutung, dass sie zum natürlichen Keimspektrum des Respirationstraktes von Wildschweinen gehören könnten.

Die serologische Untersuchung von 78 Wildschweinseren mittels KBR durch Vicente et al. (2002) ergab keinen Antikörpernachweis für *H. parasuis*, während Vengust et al. (2006) mittels ELISA bei 18% der 187 Serumproben ein positives Ergebnis erhielten.

5.1.6 α -hämolyisierende Streptokokken

Eine insgesamt weite Verbreitung innerhalb Deutschlands konnte auch für α -hämolyisierende Streptokokken nachgewiesen werden. Neben einer durchschnittlichen Prävalenz von 58,4 % ergaben sich insbesondere in Bayern, Rheinland-Pfalz, Niedersachsen und Thüringen hohe Nachweisraten von 69,2 % und mehr. Weit unterdurchschnittliche Werte wurden hingegen in Hessen, Sachsen und Sachsen-Anhalt ermittelt. In der Jagdsaison 2004/2005 lag das durchschnittliche Vorkommen von α -hämolyisierenden Streptokokken bei 75,9 %. Es fiel ein Jahr später auf 46,5 % ab.

Untersuchungen von Verkühlen (2005) zum Vorkommen und zur medizinischen Bedeutung von *S. suis* bei Wildschweinen in Nordwestdeutschland erbrachten bei 200 beprobten Wildschweinen in 92,8 % einen kulturellen Nachweis von *S. suis* aus Tonsillen. Die Probenentnahme erfolgte im Winter 2004/2005 auf 19 Jagden in 10 Landkreisen, die bis auf einen alle in Niedersachsen lagen. 61 der untersuchten Tiere waren mit mehr als einem *S. suis* Serotyp infiziert, wobei unter den insgesamt 244 Isolatentypen 22 verschiedene Genotypen nachgewiesen wurden. Die Prävalenz für den Serotypen 2 betrug 11 % und unterschied sich stark in den 13 untersuchten Regionen (0

– 58 %). In die Untersuchung gingen auch die Tonsillen von 22 Wildschweinen aus dem Forstamt Göhrde ein, die alle positiv auf *S. suis*, jedoch negativ auf den Serotyp 2, getestet wurden. Die von Verkühlen (2005) ermittelten Prävalenzen bestätigen die eigenen für α -hämolyisierende *Streptokokken* ermittelten Werte in Niedersachsen. Hier betrugen die Prävalenzen im Revier Nummer 14/30 (Forstamt Göhrde) 83,3 % für die Jagdsaison 2004/2005 und 100 % für die Jagdsaison 2005/2006.

Eine Aussage über die Pathogenität der im Rahmen dieser Dissertation isolierten α -hämolyisierenden *Streptokokken* ist kaum möglich. Die weite Erregerverbreitung spricht jedoch in der Mehrzahl der vorliegenden Fälle für die Zugehörigkeit des Erregers zur natürlichen Keimflora der Wildschweine, wie es auch von Hausschweinen her bekannt ist (Clifton-Hadley et al., 1986; Devriese et al., 1991; Robertson et al., 1991; Hogg et al., 1996). Verkühlen (2005) geht davon aus, dass *S. suis* beim Wildschwein insbesondere in Verbindung mit prädisponierenden Faktoren als Krankheitserreger auftritt, wie im Fall der häufig beschriebenen Unterkühlung von Frischlingen oder bei Ko-Infektionen mit dem *PRRSV* oder Lungenwürmern. Die eigenen Untersuchungen ergaben keinen direkten Hinweis auf einen Zusammenhang zwischen dem gleichzeitigen Nachweis von α -hämolyisierenden *Streptokokken* und dem *PRRSV* oder anderen Erregern. Anhand des Vergleiches von *S. suis*-Isolaten von Wild- und Hausschweinen zum Vorkommen Virulenz-assoziiierter Gene kam der Autor zu der Vermutung, dass bei Hausschweinen durch die Methoden der modernen Schweineproduktion eine Selektion von hoch virulenten *S. suis*-Stämmen stattgefunden habe, die in Wildschweinpopulationen selten oder gar nicht vorkämen.

In früheren serologischen Untersuchungen von Vicente et al. (2002) in Spanien konnten mittels Agarimmunodiffusionstest bei Wildschweinen keine Antikörper gegen *S. suis* Serotyp 1 und 2 nachgewiesen werden. Verkühlen (2005) gelang in Deutschland mit Hilfe eines allerdings nicht validierten ELISA der sichere Nachweis von *S. suis* Antikörpern bei 3 von 42 Wildschweinseren.

5.1.7 *Pasteurella multocida*

P. multocida konnte in nahezu allen Revieren nachgewiesen werden, wobei im Vergleich zu den übrigen pneumopathogenen Bakterien ein abgeschwächeres Verbreitungsmuster vorlag. Die durchschnittliche Erregerprävalenz betrug 32,2 %, mit einem gehäuften Erregervorkommen in Thüringen, Nordrhein-Westfalen und Sachsen ($\geq 47,6$ %). Die durchschnittliche Prävalenz der Bundesländer stieg während der beiden Untersuchungszeiträumen von insgesamt 14,9 % auf 46,5 % an. Die in nahezu allen untersuchten Bundesländern festgestellte Zunahme der Erregerhäufigkeit betraf v.a. Rheinland-Pfalz, Sachsen und Sachsen-Anhalt. Kaden et al. (2001) untersuchten in einer Wildschweinrotte in Mecklenburg-Vorpommern das Auftreten von respiratorischen Krankheitssymptomen bei den Frischlingen, von denen einige ebenfalls Deformationen des Gesichtsschädels aufwiesen. Bei einem zu Untersuchungszwecken getöteten 11 Monate alten Frischling dieser Rotte wurden toxinbildende *P. multocida* vom Kapseltyp D isoliert und ein starker Befall mit Lungenwürmern festgestellt. Erwachsene Sauen erkrankten in der Regel nur latent, scheiden den Erreger jedoch aus und können diesen somit auf die hochempfindlichen Frischlinge übertragen (Fritze 1983, 1986). Die Autoren vermuteten daher als Ursache der Infektion der Frischlinge eine Erregerübertragung durch die latent infizierten älteren Sauen aufgrund des engen Kontaktes in der Rotte bzw. durch den Kontakt mit Nasensekret und Speichel infizierter Tiere an Äsungs- oder künstlichen Futterstellen. Der starke Befall von Wildschweinen mit Lungen- und Spulwürmern könnte zudem eine Schwächung der Immunabwehr insbesondere der Frischlinge zur Folge haben und eine klinische Manifestation begünstigen. Kaden et al. (2001) sahen hinsichtlich des Krankheitsgeschehens keinen unmittelbaren Zusammenhang zu Hausschweinen als primäre Ansteckungsquelle.

Im Rahmen der eigenen Untersuchungen wurden bei der Differenzierung zwischen toxinbildenden und nicht toxinbildenden *P. multocida* keine toxinbildenden Stämme nachgewiesen. Eine durch nicht toxinbildende *P. multocida*-Stämme ausgelöste

Erkrankung ist die Pneumonische Pasteurellose (Pijoan et al., 1983, 1984; Zhao et al., 1992; Rubies et al., 2002; Davies et al., 2003), die als Sekundärinfektion im Anschluss an eine Infektion mit *M. hyopneumoniae* oder anderen bakteriellen oder viralen Erregern angesehen wird. Ein direkter Zusammenhang zwischen dem Vorkommen von *P. multocida* und anderen bakteriellen und viralen Krankheitserregern konnte in der vorliegenden Arbeit jedoch nicht festgestellt werden. Bei der Beurteilung der Pathogenität der isolierten Stämme muss weiterhin berücksichtigt werden, dass die palatinalen Tonsillen, die als Probenmaterial für die bakteriologischen Untersuchung herangezogen wurden, eine wichtige Lokalisation hinsichtlich der Beherbergung des Bakteriums auch bei gesunden Schweinen darstellen (Townsend et al., 2000). Somit ist eine Einschätzung der klinischen Bedeutung auf der Grundlage der vorliegenden Ergebnisse nicht möglich.

Da bei Hausschweinen klinisch manifeste Erkrankungen einer *P. multocida*-Infektion meist im Zusammenhang mit einem erhöhten Keimdruck, z.B. infolge unzureichender Haltungsbedingungen, innerhalb einer Herde auftreten (Kielstein, 1987), ist eine Manifestation von Krankheitserscheinungen bei Wildschweinen am ehesten bei ungünstigen klimatischen Bedingungen, massivem Endoparasitenbefall oder andere Stresssituationen, wie in der Rauschezeit oder bei erhöhtem Jagddruck, zu erwarten.

5.1.8 *Bordetella bronchiseptica*

Ein Nachweis von *B. bronchiseptica* gelang nur in dem Revier Nummer 22 (Rheinland-Pfalz) in der Jagdsaison 2005/2006 mit einer Häufigkeit von 9,1 %. Da es sich eigentlich um einen unter Schweinen weit verbreiteten Erreger handelt, ist das Ergebnis unverständlich und vermutlich auf eine Überwucherung durch andere Keime, wie sie bei der kulturellen Untersuchung von Feldproben häufig vorkommt (De Jong, 1999), zurückzuführen.

5.2 Gewebeverteilung

Um einen Hinweis zum Infektionsstatus der Tiere zu bekommen, wurde mittels PCR die Erregerverteilung in den beprobten Geweben der als positiv identifizierten Wildschweine ermittelt.

RNA des europäischen *PRRSV* wurde zu 95,2 % in Lungen- und zu 4,8 % in Tonsillenproben nachgewiesen, während die isolierte RNA des amerikanischen *PRRSV* zu 100 % aus Lungenproben stammte. *Influenzavirus A*-RNA wurde zu 81,8 % in Lungenproben und lediglich zu 18,2 % in Tonsillenproben nachgewiesen. Keines der positiven Wildschweine enthielt gleichzeitig in Lungen- und Tonsillengewebe Erreger-RNA. Für beide Viren ist die Lunge ein Haupt-Replikationsort im Rahmen einer akuten Infektion (Ada & Jones, 1986; Labarque et al., 2000; Vanderheijden et al., 2003). Rowland et al. (2003) konnten zudem an kongenital *PRRSV*-infizierten Schweinen zeigen, dass in der Phase der akuten Infektion das Virus aus allen lymphatischen und nicht lymphatischen Organen isoliert werden konnte, während sich die Virusreplikation in der anschließenden asymptomatischen Phase primär auf Tonsillen und Lymphknoten beschränkte. Da das *PRRSV* aber gleichzeitig in der Lage ist, eine latente Infektion in Lungenmakrophagen zu etablieren, ist eine Einschätzung des Infektionsstatus anhand der überwiegenden Erregerisolierung aus Lungengewebe schwierig. Hinsichtlich des *Influenzavirus A* kann bei den positiven Wildschweinen jedoch von einem akuten Krankheitsgeschehen ausgegangen werden.

A. pleuropneumoniae-DNA konnte bei 81,2 % der *APP*-positiven Wildschweine ausschließlich aus Tonsillen und bei lediglich 6,5 % ausschließlich aus der Lunge isoliert werden. Dem entsprechend betrug die Nachweisrate für beide Gewebe gleichzeitig nur 12,3 %. Der geringe Anteil an DNA-positiven Lungenproben spricht eindeutig gegen das Vorliegen einer akuten Pleuropneumonie, die in der Regel durch ausgeprägte pneumonische Veränderungen und entsprechender Kolonisation des Erregers im unteren Respirationstrakt gekennzeichnet ist (Bossé et al., 2002). Chronisch infizierte

Tiere beherbergen den Erreger hingegen häufig in ihren Tonsillen oder auch in nekrotischem Lungengewebe (Taylor, 1999). Die hohe Prävalenz an *APP*-DNA positiven Tonsillen bei den positiven Wildschweinen unterstreicht eindeutig den Carrier-Status der Tiere und damit die Bedeutung des Wildschweins als Erregerreservoir für *A. pleuropneumoniae*.

Für *H. parasuis* konnte mit 41,6 % *HPS*-DNA positiven Tonsillenproben und 6,3 % *HPS*-DNA positiven Lungenproben ebenfalls eine Häufung der Erregerprävalenz in den Tonsillen festgestellt werden. Anders als bei *APP* wies jedoch über die Hälfte der positiven Wildschweine (52,2 %) *HPS*-DNA sowohl in Tonsillen als auch in der Lunge auf. Im Gegensatz zu *A. pleuropneumoniae* handelt es sich bei *H. parasuis* nicht um einen obligat pathogenen sondern um einen fakultativ pathogenen Erreger, der zum physiologischen Keimspektrum des oberen Respirationstraktes zählt (Kielstein et al., 1994; Oliveira & Pijoan, 2004), und sowohl bei klinisch auffälligen als auch bei klinisch unauffälligen Schweinen in der BALF nachgewiesen werden konnte (Palzer et al., 2005). Somit ist der Nachweis des Erregers aus Lungengewebe kein eindeutiger Hinweis auf eine akute Erkrankung.

M. hyopneumoniae-DNA fand sich in ausgeglichenen Anteilen in Tonsillen- (20,1 %) und Lungengewebe (26,4 %). Bei 53,5 % der positiven Wildschweine konnte *MHP*-DNA aus Lungen- und Tonsillenproben isoliert werden. Der hohe Anteil an *MHP*-DNA-positiven Lungenproben zeigt, dass Infektionen mit *M. hyopneumoniae* bei Wildschweinen nicht selten vorkommen. Es stellt sich allerdings die Frage, in welchem klinischen Ausmaß diese Erkrankungen auftreten. Untersuchungen zur Virulenz von *M. hyopneumoniae* bei Hausschweinen konnten zeigen, dass eine recht hohe Variation hinsichtlich der Pathogenität einzelner Feldisolate vorzuliegen scheint (Ross, 1996; Vicca et al., 2002, 2003), die vermutlich mit der Fähigkeit zur Adhärenz zusammen hängt (Minion et al., 2000). Zudem sind die vorherrschenden Umweltbedingungen von großer Bedeutung für den Verlauf einer *M. hyopneumoniae*-Infektion. D.h. gute Umweltbedingungen führen in Schweinebetrieben meist zu subklinischen Krankheitsverläufen (Maes et al., 2000). Ungeachtet dessen, ist die Präsenz des Erregers in der Regel auch mit dem Auftreten

von Erkrankungen verbunden, insbesondere in der kritischen Übergangsphase von der passiven zur aktiven Immunität bei jungen Schweinen (Christensen et al., 1999). Und obwohl *M. hyopneumoniae* aus der BALF gesunder Schweine isoliert werden kann, kommt der Erreger im Vergleich signifikant häufiger bei an Pneumonie erkrankten Schweinen vor (Palzer, 2005). Somit muss *M. hyopneumoniae* auch bei Wildschweinen als potentieller Krankheitserreger eingeschätzt werden.

5.3 Erregerinteraktionen

Obwohl in verschiedenen Studien zur Erregerinteraktion bei Hauschweinen für viele Krankheitserreger synergistische Effekte bezüglich des Krankheitsverlaufs nachgewiesen wurden (siehe Kapitel 2.2), konnten im Rahmen der eigenen Untersuchungen keine signifikanten Assoziationen zwischen den untersuchten Viren und Bakterien festgestellt werden.

5.4 Interaktion zwischen Wild- und Hausschweinen

Im Rottenverband gelten Wildschweine als relativ standorttreu. Beunruhigungen während der Jagdsaison können jedoch zur Abwanderung in Gebiete mit geringerem Jagddruck führen, wobei in der Regel Distanzen von 5-10 km zurückgelegt werden. Bei Verlust der Rottenstruktur durch den Verlust der Leitbache und anderer adulter Bachen, sind Herdenbewegungen über Distanzen bis zu 50 km möglich. Im Allgemeinen stellt das Zurücklegen weiter Strecken jedoch eher eine Ausnahme dar. Dennoch kann das Umherstreifen der Tiere entscheidend zur Ausbreitung von Krankheitserregern beitragen (Heinritzi et al., 1999), was durch die starke Zunahme der Populationsdichte und der Verbreitung von Wildschweinen innerhalb Europas (Bieber & Ruf, 2005) noch verstärkt werden dürfte. Insbesondere bei Tierseuchen geht man davon aus, dass eine große Population zu einem lang anhaltenden Seuchengeschehen beiträgt (Mollison & Levin, 1995; Hudson et al., 2002).

Für verschiedene Erkrankungen wie beispielsweise die Klassische Schweinepest oder die Aujeszky'sche Krankheit ist die Reservoirfunktion von Wildschweinen in Bezug auf Hausschweine bekannt und mögliche Übertragungswege sind beschrieben. Im Gegensatz zu anderen Ländern findet in Deutschland nur selten ein direkter Kontakt zwischen Haus- und Wildschweinen statt, da der Großteil der Schweinebestände in geschlossenen Stallungen gehalten wird und Freilandhaltung kaum vorkommt. Ein weitaus größeres Risiko besteht daher in der indirekten Erregerverbreitung durch belebte und unbelebte Vektoren. Hinsichtlich der KSP und der AK erfolgt die Infektion von Wildschweinen durch Hausschweine meist durch den Kontakt mit infizierten Kadavern, Schlacht- und Küchenabfällen, oder aber durch den Kontakt mit Stallabprodukten (Gülle, Mist, Stallabgase, u.a.). Des Weiteren kommen Insekten, Vögel und Nager im Sinne belebter Vektoren für eine Erregerverschleppung in Frage (Dedek, 1994; Kaden et al., 1999). Abhängig von den klimatischen Bedingungen kann zudem eine mehr oder weniger weite Erregerverbreitung mit dem Wind erfolgen (Terpstra, 1987; Christensen et al., 1993; Dewulf et al., 2002a). Neben der Gefahr einer Erregerübertragung von Haus- auf Wildschweinpopulationen darf auf der anderen Seite nicht vergessen werden, dass infiziertes Schwarzwild ein temporäres Virusreservoir und damit auch ein potentiell Risiko für Hausschweinbestände darstellt (Dedek, 1994). Bezüglich der indirekten Erregerübertragung ist hier u.a. an kontaminierte Futtermittel und Einstreu, die Verfütterung von infizierten Wildbret-Abfällen und die Erregereinschleppung durch Insekten, andere Tiere und den Menschen zu denken (Kaden et al., 1999).

Da bezüglich der untersuchten respiratorischen Krankheitserreger Erkenntnisse zu den Infektionswegen zwischen Haus- und Wildschweinen weitgehend fehlen, besteht lediglich die Möglichkeit, die für die KSP und die AK bekannten Übertragungswege mit den vorhandenen epidemiologischen Erkenntnissen dieser Erreger zu vergleichen. Die Epidemiologie der einzelnen Pathogene gibt Hinweise bezüglich der Frage nach der Erregerausbreitung zwischen Haus- und Wildschweinpopulationen. So ist eine Verbreitung mit dem Wind über mehrere Kilometer für *PRRSV*, *Influenzavirus A*, *M.*

hyopneumoniae und eingeschränkt auch für *A. pleuropneumoniae* beschrieben (Tofts, 1986; Grosse Beilage et al., 1991; Komijn, 1991; Edwards et al., 1992; Blaha & Büker, 1995; Fussing et al., 1998; Lager & Mengeling, 2000; Hege et al., 2002). Des Weiteren konnte eine Übertragung durch belebte Vektoren wie Hausfliegen für *PRRSV* und *S. suis* (Denholm et al., 1985; Enright et al., 1987; Otake et al., 2003, 2004), Mosquitos und Stockenten für *PRRSV* (Zimmermann et al., 1997a; Otake et al., 2002b) und Mäuse für *S. suis* (Williams et al., 1988) nachgewiesen werden. *S. suis* ist zudem eine wichtige Kontaminante von Faeces, Staub und Wasser (Clifton-Hadley, 1986) und kann leicht durch kontaminierte Gegenstände übertragen werden (Dee & Corey, 1993), ebenso wie *A. pleuropneumoniae* und das *PRRSV* (Hunnemann & Oving, 1991; Fussing et al., 1998; Otake et al., 2002a). In Studien bezüglich der Überlebensdauer von *PRRSV* in der Umgebung von Schweinen konnte das Virus in Trinkwasser bis zu elf, in Gülle bis zu sieben Tage nachgewiesen werden (Pirtle & Beran, 1996; Dee et al., 2005). Der Einfluss der regionalen Schweinedichte auf die (Sero-) Prävalenz bestimmter Krankheitserreger in den Hausschweinbeständen der selben Region ist für Erreger wie *PRRSV*, *Influenzavirus A*, *M. hyopneumoniae* und *A. pleuropneumoniae* bekannt (Haesenbrouck & Pensaert, 1986; Elbers et al., 1990; Grosse Beilage et al., 1991; Stärk et al., 1992; Havenith, 1993; Geue, 1995; Done, 1996; Mortensen et al., 2002). Ein signifikanter Zusammenhang zwischen der regionalen Hausschweindichte und den Erregerprävalenzen der benachbarten Wildschweinpopulationen konnte in den eigenen Untersuchungen hingegen nicht nachgewiesen werden.

Die vorliegenden Untersuchungen zeigen, dass Wildschweine zumindest für *A. pleuropneumoniae* als Erregerreservoir eingestuft werden müssen. Auch die hohen Prävalenzen bezüglich der übrigen bakteriellen respiratorischen Pathogen in Verbindung mit der Gewebeverteilung geben Hinweise auf eine mögliche Reservoirfunktion. Zur Bestätigung einer Erregerübertragung/-interaktion zwischen Wild- und Hausschweinen bedarf es in Zukunft vergleichender molekularbiologischer Untersuchungen von Erregerisolaten aus beiden Tierpopulationen.

5.5 Sequenzierung ausgewählter *PRRSV*-Amplifikate

Der direkte Homologie-Vergleich von 193 Basen des europäischen Wildschweinisolates mit der Sequenz des Lelystadvirus zeigte im Bereich von zwei Basen des ORF 1 eine Sequenzabweichung auf, die einer genetischen Übereinstimmung von 98,96 % entspricht. Eine ähnlich hohe Übereinstimmung von 96 % ergab sich aus dem Vergleich des MLV Impfvirus 'Ingelvac PRRS' mit dem beim Wildschwein nachgewiesenen amerikanischen *PRRSV* auf der Grundlage von 50 Basen des ORF 1. Der Vergleich diente dazu, die Amplifikate als *PRRSV*-Sequenzen zu bestätigen. Zusätzlich wurden die Gensequenzen des europäischen und amerikanischen Amplifikates mit in der Gendatenbank veröffentlichten Hausschwein-Sequenzen des gleichen Genotyps verglichen. Während das europäische Wildschweinisolat die größte Übereinstimmung mit zwei niederländischen und einem thailändischen Isolat besaß, wies das Wildschweinisolat vom amerikanischen Genotyp die engste Verwandtschaftsbeziehung mit einem chinesischen Isolat auf.

In Hinblick auf die insgesamt hohe genetische Variabilität innerhalb europäischer und amerikanischer *PRRSV*-Genotypen (Magar et al., 1995; Kapur et al., 1996; Pirzadeh et al. 1998, Allende et al., 1999; Nelsen et al., 1999; Goldberg et al., 2000; Drew et al., 1997; Andreyev et al., 2000; Indik et al., 2000; Forsberg et al., 2001; Bignotti et al., 2002; Forsberg et al., 2002; Schmoll et al., 2002; Stadejek et al., 2002, Pesch, 2003) erscheint die Sequenz-Homologie zwischen den oben genannten *PRRSV*-Stämmen überraschend hoch. Es ist allerdings zu beachten, dass sich der Homologie-Vergleich nur auf einen vergleichsweise kleinen Genombereich beschränkt. Die verwendeten Primer für die *PRRSV*-Multiplex-PCR und die nested PCR wurden in Anlehnung an auf der Grundlage des ORF 1b designed, der sowohl innerhalb als auch zwischen den *PRRSV*-Genotypen stärker konserviert ist als der von anderen Genen (Gilbert et al. 1997; Yoon, 2001). Nach Gilbert et al. (1997) lag die Nukleotid-Homologie zwischen den untersuchten Genotypen bezogen auf den ORF 1 bei etwa 80 %. Im Gegensatz dazu weisen die übrigen ORFs, mit Ausnahme des ORF 6, zwischen europäischen und amerikanischen Isolaten lediglich eine Homologie von 55 - 70 % auf (Meng et al., 1995;

Morozov et al., 1995; Mardassi et al., 1994; Gagnon und Dea, 1998; Nelsen et al. 1999). Berücksichtigt man die Homologieunterschiede der einzelnen ORFs, würde die Sequenzübereinstimmung für das gesamte Genom der nachgewiesenen *PRRSV*-Wildschweinisolat vermutlich niedriger ausfallen. Ein weiterer Punkt ist, dass bei den oben angeführten Studien die vergleichende Sequenzierung der ORFs ausschließlich bei *PRRSV*-Isolaten von Hausschweinen erfolgte. Geht man in Wildschweinpopulationen von einem vergleichsweise geringen Selektionsdruck mit gleichzeitig niedrigerer Mutationsrate aus, könnte dies eine weitere Erklärung für die hohe Sequenzhomologie sein. Das einzige Fallbeispiel eines direkten Erregernachweises in Italien bestätigt die eigenen Sequenzierungsergebnisse. Hier wurde im Oktober 2005 ein junges Wildschwein (35-40 kg) durch einen Wildunfall getötet. Obwohl die bei der Sektion festgestellten pathologischen Veränderungen ausschließlich traumatisch bedingt waren, wurde aus dem Lungengewebe ein *PRRSV*-Stamm mit 6,5 % Sequenzunterschied zum Lelystadvirus isoliert. Die Sequenzanalyse bezog sich auf den Bereich des ORF 7 und die Autoren vermuteten, dass es sich um einen Wildtypstamm des *PRRSV* handeln müsse (Bonilauri et al., 2006).

Der im Rahmen der eigenen Untersuchungen erbrachte Nachweis von amerikanischem *PRRSV* bei Wildschweinen ist bislang einzigartig. Die Frage nach der Herkunft des amerikanischen Genotyps innerhalb der Wildschweinpopulation könnte mit der Übertragung von Lebendimpfvirus aus Hausschweinbeständen in Verbindung stehen, zumal die Ausbreitung des Impfvirus innerhalb und zwischen einzelnen Hausschweinebeständen mehrfach beschrieben worden ist (Bøtner et al., 1997; Storgaard et al., 1999; Nielsen et al., 2002). Eine weitere Ursprungserklärung für das amerikanische Wildschweinisolat ist die Existenz eines *PRRSV*-Wildtypstammes innerhalb der Wildschweinpopulation, der dem amerikanischen Genotyp sehr ähnlich wäre. Diese Möglichkeit lehnt sich an die Ursprungshypothese von Plagemann (2003) an, nach der eine Mutante des nah mit dem *PRRSV* verwandten *Lactatdehydrogenase-elevating-Virus* (LDHV) von Mäusen Wildschweine in Zentraleuropa infiziert und sich in diesen weiter entwickelt haben soll, bevor es 1912 durch den Import infizierter Wildschweine nach Amerika gelangte. Demnach wäre das *PRRSV* ursprünglich bei

Wildschweinen vorgekommen, bevor es über diese in die Hausschweinbestände Amerikas und Europas eingetragen wurde.

5.6 Einfluss der Methodik auf die Untersuchungsergebnisse

Bei der Beurteilung von Untersuchungsergebnissen zum Erregernachweis sollte immer eine kritische Betrachtung der Methoden der Probenentnahme, des ausgewählten Probenmaterials, des Stichprobenumfangs und der Untersuchungsmethoden erfolgen.

In der vorliegenden Arbeit ergeben sich bezüglich der Probenentnahme Unsicherheit aus den Abläufen bei der Bergung des Wildbrets und seiner Aufbereitung. Durch die Verwendung neuer Einweghandschuh und Entnahmematerialien für jedes beprobte Tier, kann eine Kontamination zwischen einzelnen untersuchten Tieren im Rahmen der Probenentnahme jedoch weitgehend ausgeschlossen werden.

Da sich der Erregernachweis im Rahmen dieser Arbeit auf virale und bakterielle respiratorische Krankheitserreger bezog, wurden als Probenmaterialien Tonsillen und Lungengewebe ausgewählt. Beide Gewebe sind für den Nachweis der betrachteten Viren und Bakterien gut geeignet und werden entsprechend in der Routinediagnostik als Untersuchungsmaterial verwendet (Wöste, 2007). In Bezug auf die vergleichsweise geringe Gewebemenge je Proben, besteht allerdings die Möglichkeit, dass Erreger vereinzelt nicht erfasst und somit falsch negative Ergebnisse ermittelt wurden.

Mit insgesamt 361 untersuchten Wildschweinen deutschlandweit ging eine verhältnismäßig große Anzahl an Proben in die Untersuchung ein. Durch die Auswertung dieser Proben konnte ein guter Überblick über das Vorkommen pneumopathogener Krankheitserreger in Deutschland gewonnen werden. Bei der Beurteilung der Erregerprävalenzen auf Bundeslandebene sollte allerdings beachtet werden, dass sich die Prävalenzen bereits auf Revierebene, je nach Populationsdichte

und vorherrschenden Umweltbedingungen, stark unterscheiden können. Die Übertragung regionaler Prävalenzen auf ein gesamtes Bundesland ist daher nur eingeschränkt möglich.

Die meisten bislang an Wildschweinen durchgeführten Prävalenzstudien wurden als serologische Untersuchungen durch eine Untersuchung des Antikörpertiters zu einem bestimmten Zeitpunkt durchgeführt. Im Gegensatz zur PCR erlaubt diese Methode des indirekten Erregernachweises keine Aussage über das Vorliegen einer akuten Infektion bzw. das Vorhandensein des Erregers im Tier. Nur der Titeranstieg im Rahmen einer gepaarten Serumprobe spricht für einen akuten Prozess. Die Zeitspanne zwischen Infektion und Serokonversion ist dabei sehr variabel und abhängig vom Erreger, der nachgewiesenen Immunglobulinklasse, dem Testsystem und letztlich auch dem Einzeltier. Sie liegt für die untersuchten Pathogene zwischen einer bis mehreren Wochen (Piffer & Ross, 1984; Nielsen, 1988; Yoon et al., 1992; Sheldrake & Romalis, 1992; Strasser et al., 1992; Brown et al., 1993; Joo et al., 1997). Bei der Untersuchung von Jungtieren kann die Erfassung von maternale Antikörpern durch das Testsystem zu falsch positiven Testergebnis führen (Corniglia et al., 2004).

Im Gegensatz zur Serologie ermöglicht die PCR aufgrund Ihrer hohen Sensitivität einen frühen Erregernachweis, auch bei schwachen Infektionen ohne nennenswerte Immunreaktion, wie sie beispielsweise bei *M. hyopneumoniae* vorkommen können (Howard & Taylor, 1985). Daher erfolgte die Untersuchung der Proben in der vorliegenden Arbeit für die Mehrzahl der Pathogene mittels PCR. Lediglich der Nachweis von α -hämolyisierenden *Streptokokken*, *P. multocida* und *B. bronchiseptica* wurde im Rahmen der Routinediagnostik des Institutes für Hygiene und Infektionskrankheiten der Tiere der Justus-Liebig-Universität Gießen durch einen kulturellen Erregernachweis geführt. Die PCR ist seit einigen Jahren eine gebräuchliche Methode für den direkten Erregernachweis und stellt eine hoch spezifische und hoch sensitive Methode dar, mit der auch geringe Genommengen detektiert werden können. Dies ist für den Nachweis von RNA-Viren wie dem *Influenzavirus A* und dem *PRRSV* von großem Wert, da ihre RNA schnell durch gewebeeigene Nukleasen abgebaut wird.

Die PCR bietet zudem den Vorteil, dass über den direkten Nachweis des viralen oder bakteriellen Genoms die Anwesenheit des Erregers festgestellt werden kann. Es muss jedoch berücksichtigt werden, dass der PCR-Nachweis nicht zwangsläufig mit dem Vorliegen eines noch infektiösen und somit vermehrungsfähigen Erregers gleichzusetzen ist (Suaréz et al., 2003).

Der Zeitraum in dem das Immunsystem Viren oder Bakterien im Anschluss an eine Infektion eliminiert und in dem folglich ein direkter Erregernachweis möglich ist, kann je nach Erreger sehr unterschiedlich sein. So existiert z.B. für das *Influenzavirus A* mit einer Virusausscheidung über ein bis zwei Wochen p.i. (Choi et al., 2004) nur ein enges Nachweisfenster. Infektiöses *PRRSV* konnte aus Tonsillen maximal 157 Tage p.i. (Wills et al., 1997c) nachgewiesen werden und für *A. pleuropneumoniae* ist nach Überleben einer Infektion sogar eine dauerhafte Isolierung des Bakteriums aus Tonsillen und nekrotischem Lungengewebe von Keimträgern möglich (Henning, 1997; Taylor, 1999). Das Beispiel *APP* zeigt, dass eine qualitative PCR nicht immer eine Differenzierung zwischen Infektion und Erkrankung eines Tieres zulässt. Dies gilt insbesondere für fakultativ pathogene Keime (*H. parasuis*, *P. multocida*, *B. bronchiseptica*) und Sekundärerreger (α -hämolyisierende *Streptokokken*), die auch aus der BALF gesunder Schweine regelmäßig isoliert werden können (Palzer et al., 2005).

Ein Problem der PCR-Diagnostik ergibt sich aus der hohen genetischen Variabilität einiger Erreger, die entscheidenden Einfluss auf die Spezifität der eingesetzten Primer hat. Ein Beispiel dafür ist das *PRRSV* (Magar et al., 1995; Kapur et al., 1996; Drew et al., 1997; Pirzadeh et al. 1998, Allende et al., 1999; Nelsen et al., 1999; Andreyev et al., 2000; Goldberg et al., 2000; Indik et al., 2000; Forsberg et al., 2001; Bignotti et al., 2002; Forsberg et al., 2002; Schmoll et al., 2002; Stadejek et al., 2002, Pesch, 2003). Diese Schwachstelle kann durch die Auswahl möglichst hoch konservierter Sequenzabschnitte für die PCR kompensiert werden, um das Auftreten falsch negativer Befunde durch Mutationen weniger konservierter Genomabschnitte zu verhindern (Castrucci et al., 1993; Christopher-Hennings et al., 2003; Hanada et al., 2005). Zudem sollte eine ständige Kontrolle der verwendeten Primer gegenüber den aktuell zirkulierenden Feldisolaten erfolgen (Christopher-Hennings et al., 2003).

5.7 Schlussfolgerung

Anhand der vorgestellten Ergebnissen lässt sich sagen, dass die ermittelten Prävalenzen eine unerwartet weite Verbreitung respiratorischer Krankheitserreger unter Wildschweinen belegen und somit die Bedeutung des Wildschweins als potentiell Erregerreservoir für Hausschweine untermauern. Auf der anderen Seite muss umgekehrt auch von einer Gefährdung der Wildschweinpopulation durch Hausschweinbestände ausgegangen werden. Die sowohl räumlich als auch zeitlich, d.h. saisonal, ausgeprägten Prävalenzunterschiede weisen auf den Einfluss verschiedenster Umweltfaktoren auf die Erregerverbreitung innerhalb der Wildschweinpopulation hin und könnten als Indikator für die epidemiologische Instabilität innerhalb der Wildschweinpopulationen dienen. Letztlich ist der Nachweis des amerikanischen PRRSV-Typs bei Wildschweinen als äußerst interessant zu bewerten, denn die Frage nach seine Herkunft schließt neben der Möglichkeit einer Impfvirusübertragung von Haus- auf Wildschweine insbesondere die Existenz eines dem amerikanischen Genotyp ähnlichen *PRRSV*-Wildtypstammes innerhalb der Wildschweinpopulation ein.

Trotz der Menge an gewonnenen Informationen, bleiben am Ende Fragen offen. So erlaubt die unregelmäßige Erregerverteilung keine Aussage zu möglichen Erregerinteraktionen und auch die Frage nach den Übertragungswegen zwischen Hausschweinen und Wildschweinen bleibt letztlich ungeklärt. Es bedarf weiterer molekularbiologischer Untersuchungen wie vergleichende Sequenzierungen, um die Variabilität zwischen Wild- und Hausschweinsequenzen festzustellen und zu ermitteln, ob innerhalb der Wildpopulationen ein Bezug zwischen der Variabilität von Gensequenzen und der geographischen Zuordnung besteht. Die Durchführung einer quantitativen PCR-Methode im Sinne einer realtime PCR würde zudem helfen, die pathogene Bedeutung der Krankheitserreger besser einzuschätzen.

6. Zusammenfassung

In Hinblick auf Infektionskrankheiten des Respirationstraktes bei Schweinen fand in den letzten Jahren, v.a. durch die Zunahme des Tierhandels und die regional zum Teil erheblich gestiegene Schweinedichte, eine weite Erregerverbreitung statt. Häufig handelt es sich um Mischinfektionen mit verschiedenen viralen und/oder bakteriellen pneumopathogenen Erregern, deren Interaktionen eine erhebliche Bedeutung bei der Entstehung respiratorischer Erkrankungen zugemessen wird. Serologische Untersuchungen bei Wildschweinen konnten zwar Antikörper gegen einige respiratorischen Krankheitserreger nachweisen, Berichte über direkte Erregerisolierungen oder gar klinische Erkrankungen sind hingegen auf Einzelfälle und einzelne Erreger beschränkt. Die Rolle des Wildschweins als Erregerreservoir für Erkrankungen wie z.B. die Aujeszky'sche Krankheit oder Klassische Schweinepest ist sehr gut belegt. Ziel der vorliegenden Arbeit war, das Vorkommen verschiedener respiratorischer Krankheitserreger bei Wildschweinen bundesweit in einzelnen Revieren zu untersuchen und darüber hinaus Erkenntnisse über mögliche Erregerinteraktionen, die Rolle des Wildschweins als Erregerreservoir sowie über die Ausbreitungsrichtung und Übertragungswegen respiratorischer Krankheitserreger zwischen Haus- und Wildschweinen zu erlangen.

Insgesamt 361 Wildschweine aus 33 Revieren wurden deutschlandweit auf das Vorkommen respiratorischer Krankheitserreger untersucht. Der Nachweis spezifischer Nukleinsäuren von *PRRSV*, *Influenzavirus A*, *M. hyopneumoniae*, *A. pleuropneumoniae* und *H. parasuis* erfolgte an 361 Lungen- und Tonsillenproben mittels PCR, während für α -hämolyisierende *Streptokokken*, *P. multocida* und *B. bronchiseptica* an 302 Tonsillenproben ein kultureller Erregernachweis durchgeführt wurde. Eine Überprüfung der angezüchteten *P. multocida*-Stämme auf die Fähigkeit der Toxinbildung wurde ebenfalls mittels PCR durchgeführt. Ein europäisches und ein amerikanisches *PRRSV*-Amplifikat wurden sequenziert und auf der Basis der ORF 1 -Sequenz des Lelystadvirus und des MLV Impfvirus 'Ingelvac PRRS' verglichen.

Zusammenfassend wurden für die Jagdsaison 2004/2005 und 2005/2006 folgende Nachweishäufigkeiten in Deutschland ermittelt: europäisches *PRRSV* 5,5 %, amerikanisches *PRRSV* 3,6 %, *Influenzavirus A* 6,4 %, *M. hyopneumoniae* 44,0 %, *A. pleuropneumoniae* 42,7 %, *H. parasuis* 73,7 %, α -hämolyisierende *Streptokokken* 57,9 %, *P. multocida* 32,2 % und *B. bronchiseptica* 0,3 %. Dabei zeigte sich eine ausgeprägte räumliche und zeitliche (d.h. saisonale) Inhomogenität der Ergebnisse. Prävalenzen für das europäische und das amerikanische *PRRSV* ergaben sich lediglich in der Jagdsaison 2004/2005, mit höheren Werten für die nördlichen Bundesländer Schleswig-Holstein, Mecklenburg-Vorpommern, Niedersachsen und Brandenburg und niedrigeren Werten für die südlichen Bundesländer Baden-Württemberg und das Saarland. Interessanterweise zeigte sich bezüglich der *Influenzavirus A*-positiven Reviere ein ähnliches Verbreitungsmuster wie für das *PRRSV*. Die viralen Krankheitserreger ausgeschlossen, zeichneten sich die Bundesländer Thüringen, Bayern, Schleswig-Holstein, Sachsen-Anhalt, Sachsen und Nordrhein-Westfalen durch insgesamt hohe Erregerprävalenzen aus, während die Prävalenzen im Saarland, in Hessen und Brandenburg für die Mehrzahl der untersuchten Bakterien auffällig niedrig ausfielen.

RNA des europäischen *PRRSV* wurde in 95,2 %, die des amerikanischen *PRRSV* in 100% der positiven Fälle aus Lungenproben nachgewiesen. Auch bezüglich des Schweineinfluenzavirus erfolgte die Isolierung der Erreger-RNA mit 81,8 % hauptsächlich aus Lungenproben. Dabei konnte bei keinem der *PRRSV* bzw. *Influenzavirus A* positiven Wildschweine in Lungen- und Tonsillengewebe gleichzeitig Nukleinsäure nachgewiesen werden. *M. hyopneumoniae*-DNA fand sich in ausgeglichenen Anteilen in Tonsillen- und Lungengewebe. In 53,5 % wurde *MHP*-DNA aus beiden Geweben gleichzeitig isoliert. Der Nachweis von *A. pleuropneumoniae*-DNA erfolgt mit 81,2 % fast ausschließlich aus den Tonsillen und unterstreicht die Bedeutung des Wildschweins als *APP*-Reservoir. Auch für *H. parasuis* konnte mit 41,6 % *HPS*-DNA positiven Tonsillenproben und 6,3 % *HPS*-DNA positiven Lungenproben eine stärkere Erreger-Präsenz in den Tonsillen festgestellt werden. Anders als bei *APP* wies jedoch

über die Hälfte der positiven Wildschweine (52,2 %) *HPS*-DNA sowohl in Tonsillen als auch in der Lunge auf.

Der direkte Homologie-Vergleich von 193 Basen des europäischen Wildschweinisolates mit der Sequenz des Lelystadvirus zeigte im Bereich von zwei Basen des ORF 1 eine Sequenzabweichung im Sinne einer Punktmutation auf, was einer genetischen Übereinstimmung von 98,96 % entspricht. Eine ähnlich hohe Übereinstimmung von 96 % ergab sich aus dem Vergleich des MLV Impfvirus 'Ingelvac PRRS' mit dem beim Wildschwein nachgewiesenen amerikanischen *PRRSV* auf der Grundlage von 50 Basen des ORF 1. Die Abweichung beruhte auf zwei Punktmutationen. Beide Vergleiche dienten dazu, die Amplifikate als *PRRSV*-Sequenzen zu bestätigen und vergleichend einzuordnen. Der Nachweis des amerikanischen *PRRSV* bei Wildschweinen in Europa ist bislang einzigartig und wirft die Frage nach der Herkunft des Virus auf. Als mögliche Erklärung kommt neben der Übertragung von Lebendimpfvirus von Haus- auf Wildschweine auch die Existenz eines dem amerikanischen Genotyp ähnlichen *PRRSV*-Wildtypstammes innerhalb der Wildschweinpopulation in Frage.

7. Summary

With regard to respiratory tract infections in swine there has been a wide distribution of pathogens over the last years, in particular because of the increase of animal trade and local pig density. Frequently, respiratory diseases are caused by a mixed infection of different viral and/or bacterial agents, with pathogen interactions playing a significant role in the development of these diseases. Former serological studies on wild boars detected antibodies against some respiratory agents in these species, but reports on direct bacterial or viral isolation or even on clinical disease are restricted to individual cases and singular pathogens. The role of the wild boar as reservoir for certain pathogens e.g. for the causative agents of Aujeszky's disease or classical swine fever is well known. The aim of this study was to evaluate the occurrence of different respiratory pathogens in wild boars in Germany and to obtain more information about possible pathogen interactions, the role of the wild boar as a pathogen reservoir and the way and direction of pathogen transmission between wild boars and domestic pigs.

In total, 361 wild boar from 33 hunting grounds all over Germany were examined for the occurrence of respiratory pathogens. The detection of specific nucleic acids from *PRRSV*, *Influenzavirus A*, *M. hyopneumoniae*, *A. pleuropneumoniae* and *H. parasuis* was carried out on 361 lung and tonsillar samples using PCR, whereas 302 tonsillar samples were tested for α -haemolytic *Streptococci*, *P. multocida* and *B. bronchiseptica* by microbiological investigation. Furthermore cultured *P. multocida* isolates were checked for the ability of producing dermonecrotxin by PCR as well. Both an American and European *PRRSV*-amplicon was sequenced and compared on basis of the ORF 1 sequence of the Lelystadvirus and the MLV vaccine strain 'Ingelvac PRRS'.

In summary, the following prevalences were determined in the hunting seasons 2004/2005 and 2005/2006 in Germany: European *PRRSV* 5.5 %, American *PRRSV* 3.6 %, *Influenzavirus A* 6.4 %, *M. hyopneumoniae* 44.0 %, *A. pleuropneumoniae* 42.7 %, *H.*

parasuis 73.7 %, α -haemolytic *Streptococci* 57.9 %, *P. multocida* 32.2 % und *B. bronchiseptica* 0.3 %. At the same time there was a distinct spatial and temporal inhomogeneity of results. Prevalences of the European and American *PRRSV* were only detected in the hunting season 2004/2005, with high values for the northern states Schleswig-Holstein, Mecklenburg-Western Pomerania, Lower Saxony and Brandenburg and low values for the southern states Baden-Wuerttemberg and Saarland. Interestingly, the *Influenzavirus A* positive hunting grounds showed a similar distribution pattern as seen for *PRRSV*. With disregard of the viral pathogens, overall prevalences in Thuringia, Bavaria, Schleswig-Holstein, Saxony-Anhalt, Saxony and North Rhine-Westphalia were higher-than-average, whereas Saarland, Hesse and Brandenburg were characterised by noticeable low prevalences for most of the examined bacteria.

Ribonucleic acid of European *PRRSV* was detected in 95.2 % and American *PRRSV* in 100 % of lung samples derived from positive wild boars. Also in the case of *Influenzavirus A* the RNA was primary detected in lung samples. In this case the prevalence was 81.8 %. Thereby none of the positive wild boars with European *PRRSV*, American *PRRSV* or *Influenzavirus A* simultaneously harboured RNA in lung and tonsillar tissue. *M. hyopneumoniae* DNA was found in balanced rates in lung and tonsillar samples. In 53.5 % *MHP* DNA was isolated from both tissues at the same time. The evidence of *A. pleuropneumoniae* DNA was almost solely restricted to tonsillar samples with a prevalence of 81.2 %, which confirms the meaning of the wild boar as a reservoir for this agent. With regard to *H. parasuis* there was also a much higher pathogen presence in tonsillar tissue (41.6 % *HPS* DNA) than in lung tissue (6.3 % *HPS* DNA). In contrast to *A. pleuropneumoniae* half of the positive wild boars (52.2 %) harboured *H. parasuis* DNA in tonsillar samples as well as in lung samples.

The direct comparison of 193 bases of the European wild boar isolate with the sequence of Lelystadvirus showed a point mutation in the range of two bases belonging to the ORF 1 region. This correlates with a homology of 98.96 %. A similar high homology of 96 % was found through comparison of the American wild boar strain with the MLV vaccine strain 'Ingelvac PRRS' examining 50 bases of the ORF 1. The divergence was

due to two point mutations. Both comparisons were undertaken to confirm the PCR products as *PRRSV* sequences and to classify them in relation to other isolates. The detection of the American *PRRSV* strain among wild boar populations in Europe is unique and raises the question of its origin. Besides the transmission of a vaccine virus strain from domestic pigs to wild boars, the existence of an American-like wild type *PRRSV* strain among wild boars is a possible alternative explanation.

8. Literaturverzeichnis

- Adegboye, D. S. (1978). A review of mycoplasma-induced immunosuppression. *Br. Vet. J.* 134:556-560.
- Albina, E. (1997). Porcine reproductive and respiratory syndrome: ten years of experience (1986–1996) with this undesirable viral infection. *Vet. Res.* 28: 305-352.
- Albina, E., Kobisch, R., Cariolet, P., Morvan, P., Kéranflech, A., Beaurepaire, B., Hutet, E. & Labbé, A. (1995). Le syndrome dysgénésique et respiratoire du porc (SDRP) : Étude expérimentale des effets de l'infection sur la réponse immunitaire et la résistance aux infections Aujeszky et *Mycoplasma hyopneumoniae* chez le porc en Croissance. *Journ. Rech. Porcine Fr.* 27:107-116.
- Albina, E., Madec, F., Cariolet, R. & Torrison, J. (1994). Immune response and persistence of the porcine reproductive and respiratory syndrome virus in infected pigs and farm units. *Vet. Rec.* 134:567-573.
- Albina, E., Mesplede, A., Chenut, G., Le Potier, M.F., Bourbao, G., Le Gal, S. & Leforban, Y. (2000). A serological survey on classical swine fever (CSF), Aujeszky's disease (AD) and porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus infections in French wild boar from 1991 to 1998. *Vet. Microbiol.* 77:43-57.
- Albina, E., Piriou, L., Hutet, E., Cariolet, R. & L'Hospitalier, R. (1998). Immune responses in pigs infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV). *Vet. Immunol. Immunopathol.* 61:49-66.
- Allende, R., Lewis, T.L., Lu, Z., Rock, D.L., Kutish, G.F., Ali, A., Doster, A.R. & Osorio, F.A. (1999). North American and European porcine reproductive and respiratory syndrome viruses differ in non-structural protein coding regions. *J. Gen. Virol.* 80:307-315.
- Amass, S.F., Clark, L.K., van Alstine, W.G., Bowersock, T.L., Murphy, D.A., Knox, K. E. & Albregts, S.R. (1994). Interaction of *Mycoplasma hyopneumoniae* and *Pasteurella multocida* infections in swine. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 204:102-107.

- Andreasen, M., Nielsen, J.P., Bækbo, P., Willeberg, P. & Bøtner, A. (2000). A longitudinal study of serological patterns of respiratory infections in nine infected Danish swine herds. *Prev. Vet. Med.* 45:221-235.
- Andreyev, V.G., Scherbakov, A.V., Pylnov, V.A., Gusev, A.A., Cordioli, P. & Sala, G. (2000). Genetic variations among *PRRSV* strains isolated in Italy and in Russia. *Vet. Res.* 31:89-90.
- Arends, J.P., Harwig, N., Rudolphy, M. & Zanen, H.C. (1984). Carrier rate of *Streptococcus suis* capsular type 2 in palatine tonsils of slaughtered pigs. *J. Clin. Microbiol.* 20:945-947.
- Artois, M., Depner, K.R., Guberti, V., Hars, J., Rossi, S. & Rutili, D. (2002). Classical swine fever (hog cholera) in wild boar in Europe. *Revue Scientifique et Technique de l'Office International des Epizooties*, 21:287-303.
- Aujeszký, A. (1902). Über eine neue Infektionskrankheit bei Haustieren. *Zentralbl. Bakteriол. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. Abt. 1 Orig.* 32:353-357.
- Bachmann, P. (1972). Beitrag zur Epidemiologie der kontagiösen Pleuropneumonie beim Schwein. *Schweiz. Arch. Tierheilkd.* 114:362-382.
- Bachmann, P. (1985). Swine influenza virus. In: M.B. Pensaert (Hrsg.): *Virus infections of porcine*, Elsevier, Amsterdam:193-207.
- Baehler, J.F., Burgisser, H., de Meuron, P.A. & Nicolet, J. (1974). Infection à *Haemophilus parasuis* chez le porc. *Schweiz. Arch. Tierheilkd.* 116:183-188.
- Bækbo, P. (1988). Pathogenic properties of *Pasteurella multocida* in the lung of pigs. In: 10th Congr. Int. Pig Vet. Soc., Rio de Janeiro 1988, Proc.:58.
- Barigazzi, G., Valenza, F., Bollo, E., Guarda, F., Candotti, P., Raffo, A., & Foni, E. (1994). Anatomohistopathological features related to *Haemophilus parasuis* infection in pigs. In: 13th Congr. Int. Pig Vet. Soc., Bangkok 1994, Proc.:235.
- Batista, L., Dee, S.A., Rossow, K.D., Deen, J. & Pijoan, C. (2002). Assessing the duration of persistence and shedding of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in a large population of breeding-age gilts. *Can. J. Vet. Res.* 66:196-200.

- Baubet, E., Brandt, S. & Touzeau, C. (1998). Effet de la chasse sur les stratégies d'occupation de l' espace des sangliers (*Sus scrofa*). Analyses preliminaires. *Gibier Faune Sauvage, Game Wildl.* 15:655-658.
- Bautista, E.M., Goyal, S.M. & Collins, J.E. (1993). Serologic survey for Lelystad and VR-2332 strains of porcine respiratory and reproductive syndrome (PRRS) virus in US swine herds. *J. Vet. Diagn. Invest.* 5:612-614.
- Bechmann, G. & Schöss, P. (1988). Untersuchungen über das Vorkommen toxinbildender *Pasteurella-multocida*-Stämme in Tonsillen und Nasen von Ferkeln aus Rhinitis-atrophicans-unverdächtigen Zuchtbeständen. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 95:257-312.
- Benfield, D.A., Christopher-Hennings, J., Nelson, E.A., Rowland, R.R.R., Nelson, J.K., Chase, C.C.L., Rossow, K.D. & Collins, J.E. (1997). Persistent fetal infection of porcine respiratory and reproductive syndrome (PRRS) virus. *In: 28th Ann. Meeting American Assoc. Swine Pract., Quebec City 1997, Proc.:*455-458.
- Berner, H. (1995). Impfung - eine neue Methode der Bekämpfung der Enzootische Pneumonie des Schweines. *Prakt. Tierarzt* 8:668-682.
- Betts, A.O. (1952). Respiratory diseases of pigs. V. Some clinical and epidemiological aspects of virus pneumonia of pigs. *Vet. Rec.* 64:283-288.
- Bieber, C. & Ruf, T. (2005). Population dynamics in wild boar *Sus scrofa*: ecology, elasticity of growth rate and implications for the management of pulsed resource consumers. *J. Appl. Ecol.* 42:1203-1213.
- Bierk, M.D., Dee, S.A., Rossow, K.D., Otake, S., Collins, J.E. & Molitor, T.W. (2001). Transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus from persistently infected sows to contact controls. *Can. J. Vet. Res.* 65:261-266.
- Bignotti, E., Nigrelli, A., Nicoloso, L., Faccini, S. & Marsan-Ajmone, P. (2002). Molecular typing of PRRSV by RT-PCR reaction of viral ORF5 in field isolates. *In: 17th Congr. Int. Pig Vet. Soc., Ames, Iowa, U.S.A., Proc.:*424.
- Blaha, T. & Büker, E. (1995). Risk factors for the spread and the severity of PRRS. *In: 2nd Int. Symp. PRRS, Copenhagen 1995, Proc.:*51.

- Blouin, C., Higgins, R., Gottschalk, M. & Simard, J. (1994). Evaluation of the antibody response in pigs vaccinated against *Streptococcus suis* capsular type 2 using a double-antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay. *Can. J. Vet. Res.* 58:49-54.
- Bonilauri, P., Merialdi, G., Dottori, M. & Barbieri, I. (2006). Presence of PRRSV in wild boar in Italy. *Vet. Rec.* 158:107-108.
- Bossé, J.T., Janson, H., Sheehan, B.J., Beddek, A.J., Rycroft, A.N., Kroll, J.S. & Langford, P.R. (2002). *Actinobacillus pleuropneumoniae*: pathobiology and pathogenesis of infection. *Microbes Infect.* 4:225-235.
- Bøtner, A., Strandbygaard, B., Sørensen, K.J., Have, P., Madsen, K.G., Madsen, E.S. & Alexandersen, S. (1997). Appearance of acute PRRS-like symptoms in sow herds after vaccination with a modified live PRRS vaccine. *Vet. Rec.* 141:497-499.
- Brockmeier, S.L. (2004). Prior infection with *Bordetella Bronchiseptica* increases nasal colonisation by *Haemophilus parasuis* in swine. *Vet. Microbiol.* 99:75-78.
- Brockmeier, S.L., Palmer, M.V., Bolin, S.R. & Rimler, R.B. (2001). Effects of intranasal inoculation with *Bordetella Bronchiseptica*, porcine reproductive and respiratory syndrome virus, or a combination of both organisms on subsequent infection with *Pasteurella multocida* in pigs. *Am. J. Vet. Res.* 62:521-525.
- Brown, I.H. (2000). The epidemiology and evolution of Influenza viruses in pigs. *Vet. Microbiol.* 74:29-46.
- Brown, I.H., Done, S.H., Spencer, Y.I., Cooley, W.A., Harris, P.A. & Alexander, D.J. (1993). Pathogenicity of a swine influenza H1N1 virus antigenically distinguishable from classical and European strains. *Vet. Rec.* 132:598-602.
- Brown, I.H., Harris, P.A., McCauley, J.W. & Alexander, D.J. (1998). Multiple genetic reassortment of avian and human Influenza A viruses in European pigs, resulting in the emergence of an H1N2 virus of novel genotype. *J. Gen. Virol.* 79:2947-2955.
- Brun, A., Charreyre, C., Vaganay, A. & Reynaud, G. (1994). Porcine reproductive and respiratory syndrome and role of other infectious agents in the respiratory disease of swine. In: *13th Congr. Int. Pig Vet. Soc., Bangkok 1994, Proc.*:52.

- Brunner, J.L., Schock, D.M., Davidson, E.W. & Collins, J.P. (2004). Intraspecific reservoirs: complex life history and the persistence of a lethal ranavirus. *Ecology*, 85:560-566.
- Cameron, R.D.A., Giles, C.J. & Smith, I.M. (1980). The prevalence of *Bordetella bronchiseptica* and turbinate (conchal) atrophy in English pig herds in 1978–1979. *Vet. Rec.* 107:146.
- Capua, I., Casaccia, C., Calceta, G. & Caporale, V. (1997). Characterization of Aujeszky's disease viruses isolated from domestic animals and from a wild boar (*Sus scrofa*) in Italy between 1972 and 1995. *Vet. Microbiol.* 51:143-149.
- Carvalho, L.F., Segales, J. & Pijoan, C. (1997). Effect of porcine reproductive and respiratory syndrome virus on subsequent *Pasteurella multocida* challenge in pigs. *Vet. Microbiol.* 55:241-246.
- Castrucci, M.R., Donatelli, I., Sidoli, L., Barigazzi, G., Kawaoka, Y. & Webster, R.G. (1993). Genetic reassortment between avian and human Influenza A viruses in Italian pigs. *Virology* 193:503-506.
- Cavanagh, D. (1997). Nidovirales: a new order comprising Coronaviridae and Arteriviridae. *Arch. Virol.* 142:629-633.
- Charley, B. (1977). Local immunity in the pig respiratory tract. I. Cellular and humoral immune responses following swine Influenza infection. *Ann. Microbiol.* 128B:95-107.
- Cheon, D.S. & Chae, C. (2004). Comparison of the pathogenicity of two strains (wild type and vaccine-like) of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in experimentally infected sows. *J. Comp. Pathol.* 130:105-111.
- Chiers, K., Donne, E., Van Overbeke, I., Ducatelle, R. & Haesebrouck, F. (2002). *Actinobacillus pleuropneumoniae* infections in closed swine herds: infection patterns and serological profiles. *Vet. Microbiol.* 85:343-352.

- Cho, J.G., Dee, S.A., Deen, J., Guedes, A., Trincado, C., Fano, E., Jiang, Y., Faaberg, K., Collins, J. E., Murtaugh, M.P. & Joo, H.S. (2006). Evaluation of the effects of animal age, concurrent bacterial infection, and pathogenicity of porcine reproductive and respiratory syndrome virus on virus concentration in pigs. *Am. J. Vet. Res.* 67:489-493.
- Cho, J.G., Deen, J. & Dee, S.A. (2007). Influence of isolate pathogenicity on the aerosol transmission of Porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Can. J. Vet. Res.* 71:23-27.
- Cho, W.S. & Chae C. (2003). PCR detection of *Actinobacillus pleuropneumoniae* apxIV gene in formalin-fixed, paraffin-embedded lung tissues and comparison with in situ hybridization. *Lett. Appl. Microbiol.* 37:56-60.
- Choi, C., Kim, B., Cho, W.-S., Kim, J., Kwon, D., Cheon, D.-S. & Chae, C. (2001). Capsular serotype, *tox*A gene, and antimicrobial susceptibility profiles of *Pasteurella multocida* isolated from pigs with pneumonia in Korea. *Vet. Rec.* 149:210-212.
- Choi, Y.K., Goyal, S.M. & Joo, H.S. (2004). Evaluation of transmission of swine influenza type A subtype H1N2 virus in seropositive pigs. *Am. J. Vet. Res.* 65:303-306.
- Christensen, G., Sørensen, V. & Mousing, J. (1999). Disease of the Respiratory System. In: Straw, B.E., D'Allaire, S., Mengeling, W.L., Taylor, D.J. (Hrsg.), *Diseases of swine*, 8th ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA:913-940.
- Christensen, L.S., Mortensen, S., Bøtner, A., Strandbygaard, B.S., Ronsholt, L., Henriksen, C.A. & Andersen, J.B. (1993). Further evidence of long-distance airborne transmission of Aujeszky's disease (pseudorabies) virus. *Vet. Rec.* 132:317-321
- Christianson, W.T., Choi, C.S., Collins, J.E., Molitor, T.W., Morrison, R.B. & Joo, H.S. (1993). Pathogenesis of porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection in mid-gestation sows and fetuses. *Can. J. Vet. Res.* 57:262-268.
- Christopher-Hennings, J. (2003). Update on PRRSV and boars. In: 34th Ann. Meeting Am. Assoc. Swine Vet., Orlando 2003, Proc.:525-529.

- Christopher-Hennings, J., Nelson, E.A., Hines, R.J., Nelson, J.K., Swenson, S.L., Zimmerman, J.J., Chase, C.L., Yaeger, M.J. & Benfield, D.A. (1995). Persistence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in serum and semen of adult boars. *J. Vet. Diagn. Invest.* 7:456-464.
- Ciprian, A., Pijoan, C., Cruz, T., Camacho, J., Tortora, J., Colmenares, G., Lopez-Revilla, R. & de la Garza, M. (1988). *Mycoplasma hyopneumoniae* increases the susceptibility of pigs to experimental *Pasteurella multocida* pneumonia. *Can. J. Vet. Res.* 52:434-438.
- Clifton-Hadley, F.A. (1986). The epidemiology, diagnosis, treatment and control of *Streptococcus suis* type 2 infection. In: J.D. McKean (Hrsg.), *Proceedings of the American Association of Swine Practitioners, Minneapolis 1986*:471-491.
- Clifton-Hadley, F.A. & Alexander, T.J.L. (1980). The carrier site and carrier rate of *Streptococcus suis* type 2 in pigs. *Vet. Rec.* 107:40-41.
- Clifton-Hadley, F.A. & Alexander, T.J.L. (1991). Diagnosis of *Streptococcus suis* infection in pigs. In: E. Boden (Hrsg.), *Swine Practice, Baillière Tindall, London*:115-126.
- Clifton-Hadley, F.A., Alexander, T.J.L., Upton, I. & Duffus, W.P.H. (1984). Further studies on the subclinical carrier state of *Streptococcus suis* type 2 in pigs. *Vet. Rec.* 114:513-518.
- Cloutier, G., D'Allaire, S., Martinez, G., Surprenant, C., Lacouture, S. & Gottschalk, M. (2003). Epidemiology of *Streptococcus suis* serotype 5 infection in a pig herd with and without clinical disease. *Vet. Microbiol.* 97:135-151.
- Commission Decision, 2003/130/EC, 2003: Amendment to Decision 2001/618/EC to include the whole territory of Germany in the list of Member States and regions free of Aujeszky's disease and certain departments of France in the Lists of Member States and regions free of this disease and regions where approved eradication programmes are in place. 26 February 2003. Off. J. L052, 9–10.
- Cooper, V.L., Doster, A.R., Hesse, R.A. & Harris, N.B. (1995). Porcine reproductive and respiratory syndrome-NEB-1 PRRSV infection did not potentiate bacterial pathogens. *J. Vet. Diagn. Invest.* 7:313-320.

- Corniglia, E., Klopfenstein, C., Caya, I. & Fontaine, G. (2004). Detection of PRRS by different diagnosis tests in a natural infection. *In: 18th Congr. Int. Pig Vet. Soc., Hamburg 2004, Proc.:*140.
- Cromwijk, W.A., Hartmann, E.G. & Van 't Veld (1992). Actinobacillus pleuropneumoniae type 2, 9 und 11: Different post mortem observations and the role of management factors. *In: 12th Congr. Int. Pig Vet. Soc., Den Haag 1992, Proc.:*208.
- Crujisen, T., Van Leengoed, L.A., Kamp, E.M., Hunneman, W.A., Riepema, K., Bartelse, A. & Verheijden, J.H. (1995). Prevalence and development of antibodies neutralizing the haemolysin and cytotoxin of Actinobacillus pleuropneumoniae in three infected pig herds. *Vet. Q.* 17:96-100.
- Crujisen, T., Van Leengoed, L.A. & Verheijden, J.H.M. (1994). Are Actinobacillus pleuropneumoniae convalescent pigs fully protected against challenge with homologous and heterologous serotype? *In: 13th Congr. Int. Pig Vet. Soc., Bangkok 1994, Proc.:*129.
- Dahle, J. & Liess, B. (1992). A review on classical swine fever infections in pigs: epizootiology, clinical disease, and pathology. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 15:203-211.
- Dahle, J., Patzelt, T., Schagemann, G. & Liess, B. (1993). Antibody prevalence of hog cholera, bovine viral diarrhoea and Aujeszky's disease virus in wild boar in northern Germany. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 100:330-333.
- Dardallion, M. (1988). Wild boar social groupings and their seasonal changes in the Camargue, southern France. *Zeitschrift für Säugetierkunde* 53:22-30.
- Davies, E.B. & Beran, G.W. (1981). Influence of environmental factors upon the survival of Aujeszky's disease virus. *Res. Vet. Sci.* 31:32-36.
- Davies, R.L., Maccorquodale, R. & Caffrey, B. (2003). Diversity of avian Pasteurella multocida strains based on capsular PCR typing and variation of the OmpA and OmpH outer membrane proteins. *Vet. Microbiol.* 91:169-182.
- Dea, S., Bilodeau, R., Sauvageau, R. & Martineau, G.P. (1990). Virus isolation from farms in Quebec experiencing severe outbreaks of respiratory and reproductive problems. *In: Mystery Swine Dis Comm Meet Livest Conserv Inst, Denver, Colorado 1990, Proc.:*67-72.

- Dedek, J. (1994). Aujeszky'sche Krankheit und Europäische Schweinepest. In: Dedek & Steineck (Hrsg.), *Wildhygiene*, Gustav Fischer Verlag Jena, Stuttgart:81-82 und 86-87.
- Dee, S.A. & Corey, M.M. (1993). The survival of *Streptococcus suis* on farm and veterinary equipment. *J. Swine Health Prod.* 1:17-20.
- Dee, S.A., Deen, J., Otake, S. & Pijoan, C. (2004). An experimental model to evaluate the role of transport vehicles as a source of transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus to susceptible pigs. *Can. J. Vet. Res.* 68:128-133.
- Dee, S.A. & Joo, H.S. (1994). Prevention of the spread of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in endemically infected pig herds by nursery depopulation. *Vet. Rec.* 135 :6-9.
- Dee, S.A., Martinez, B.C. & Clanton, C. (2005). Survival and infectivity of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in swine lagoon effluent. *Vet. Rec.* 156 :56-57.
- De Jong, M.F. (1999). Progressive and nonprogressive atrophic rhinitis. In: Straw, B.E., D'Allaire, S., Mengeling, W.L., Taylor, D.J. (Hrsg.), *Diseases of swine*, 8th ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA:355-384.
- Del Campo Sepulveda, E., Altman, E., Kobisch, M. & Gottschalk, M. (1996). Detection of serotype-specific antibodies against *Streptococcus suis* capsular type 2 using an indirect ELISA. *Vet. Microbiol.* 52:113-125.
- Denholm, I., Sawicki, R.M. & Farnham, A.W. (1985). Factors affecting resistance to insecticides in house-flies, *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). IV. The population biology of flies on animal farms in south-eastern England and its implications for the management of resistance. *Bulletin of Entomological Research* 57:143-158.
- Depner, K.R., Granzow, H., Kern, B., Liess, B., Müller, P. (1998). Schweinepest- Uneingeschränkte Jagd ist kontraproduktiv. *Wild und Hund* 15:34-39.
- Depner, K.R., Kern, B. & Liess, B. (1998). Epidemiologische Relevanz der Persistenz von KSP-Virus beim Schwarzwild (*Sus scrofa* sp.). *Amtstierärztlicher Dienst und Lebensmittelkontrolle* 5:244-248.

- Depner, K.R., Müller, A., Gruber, A., Rodriguez, A., Bickhardt, K. & Liess, B. (1995). Classical swine fever in wild boar (*Sus scrofa*) - experimental infections and viral persistence. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 102:381-384.
- Depner, K.R., Müller, T., Lange, E., Staubach, C. & Teuffert, J. (2000). Transient classical swine fever virus infection in wild boar piglets partially protected by maternal antibodies. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 107:66-68.
- De Vos, C.J., Saatkamp, H.W., Nielen, M. & Huirne, R.B.M. (2004). Scenario Tree Modeling to analyze the probability of Classical Swine Fever Virus introduction into member states of the European Union. *Risk Analysis* 24:237-253.
- Devriese, L.A., Ceyssens, K., Hommez, J., Kilpper-Balz, R. & Schleifer, K.H. (1991). Characteristics of different *Streptococcus suis* ecovars and description of a simplified identification method. *Vet. Microbiol.* 26:141-150.
- Dewulf, J., Laevens, H., Koenen, F., Mintiens, K. & de Kruif, A. (2002a). Airborne transmission of classical swine fever virus under experimental conditions. *Vet. Rec.*, 147:735-738.
- Dewulf, J., Laevens, H., Koenen, F., Mintiens, K. & de Kruif, A. (2002b). An experimental infection to investigate the indirect transmission of classical swine fever virus by excretions of infected pigs. *J. Vet. Med. B*, 49:452-456.
- Done, S.H. (1996). Enzootic pneumonia (mycoplasmosis) revisited. *Pig Vet. J.* 38:40-61.
- Done, S.H. (1999). *Haemophilus parasuis*: a synopsis. *Pig Journ.* 44:207-221.
- Drew, T.W. (1999). Does PRRSV cause immunosuppression? A review of the published evidence. In: *3rd Int. Symp. PRRS, Ploufragan 1999, Proc.*:59-65.
- Drew, T.W., Lowings, J.P. & Yapp, F. (1997). Variation in open reading frames 3, 4 and 7 among porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolates in the UK. *Vet. Microbiol.* 55:209-221.

- Drolet, R., Larochelle, R., Morin, M., Delisle, B. & Magar, R. (2003). Detection rates of porcine reproductive and respiratory syndrome virus, porcine circovirus type 2, and swine influenza virus in porcine proliferative and necrotizing pneumonia. *Vet. Pathol.* 40:143-148.
- Duan, X., Nauwynck, H.J. & Pensaert, M.B. (1997). Virus quantification and identification of cellular targets in the lungs and lymphoid tissues of pigs at different time intervals after inoculation with porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV). *Vet. Microbiol.* 56:9-19.
- Easterday, B.C. (1971). Influenza virus infection of the suckling pig. *Acta Vet.* 2:33-42.
- Easterday, B.C. (1972). Immunologic considerations in swine influenza. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 160:645-648.
- Edwards, S. (2000). Survival and inactivation of classical swine fever virus. *Vet. Microbiol.*, 73:175-181.
- Edwards, S., Robertson, I., Wilesmith, J., Ryan, J., Kilner, C., Paton, D., Drew, T., Brown, I. & Sands, J. (1992). PRRS ("blue-eared pig disease") in Great Britain. *Americ. Assoc. Swine Pract. – Newsl* 4, no 4, 32-36.
- Elbers, A.R., Tielen, M.J., Cromwijk, W.A. & Hunneman, W.A. (1990). Sero-epidemiological screening of pig sera collected at the slaughterhouse to detect herds infected with Aujeszky's disease virus, porcine Influenza virus and *Actinobacillus* (*Haemophilus*) *pleuropneumoniae* in the framework of an integrated quality control (IQC) system. *Vet. Q.* 12:221-230.
- Ellis, J.S. & Zambon, M.C. (2001). Combined PCR-heteroduplex mobility assay for detection and differentiation of influenza A viruses from different animal species. *J. Clin. Microbiol.* 39:4097-4102.
- Enright, M.R., Alexander, T.J.L. & Clifton-Hadley, F.A. (1987). Role of houseflies (*Musca domestica*) in the epidemiology of *Streptococcus suis* type 2. *Vet. Rec.* 121:132-133.
- Ewald, C., Heer, A. & Havenith, U. (1994). Mit dem Vorkommen von Influenza-A-Virusinfektionen bei Mastschweinen assoziierte Faktoren. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* 107:256-262.

- Ewald, P. W. (1993). The evolution of virulence. *Sci. Am.* 268:86-93.
- Falk, K., Høie, S. & Lium, B.M. (1990). Enzootic pneumonia of pigs – studies on field material on the relationship between the extent of lung lesions and the demonstration of *Pasteurella multocida* and *Mycoplasma hyorhinis*. In: *11th Congr. Int. Pig Vet. Soc., Lausanne 1990, Proc.*:93.
- Fano, E., Pijoan, C. & Dee, S. (2004). Assessing the duration of *Mycoplasma hyopneumoniae* infection in gilts. In: *18th Congr. Int. Pig Vet. Soc., Hamburg, Deutschland 2004, Proc.*:167.
- Feng, W-H., Laster, S.M., Tompkins, M., Brown, T., Xu, J.-S., Altier, C., Gomez, W., Benfield, D. & McCaw, M.B. (2001). In utero infection by porcine reproductive and respiratory syndrome virus is sufficient to increase susceptibility of piglets to challenge by *Streptococcus suis* Type II. *J. Virol.* 75:4889-4895.
- Fernandez-Llario, P., Carranza, J. & Hidalgo de Trucios, S.J. (1996). Social organization of the wild boar (*Sus scrofa*) in Donana National Park. *Miscellanea Zoologica* 19, 9-18.
- Ferrari, G., Guidoni, M., Amaddeo, D., Autorino, G.L. & Forletta, R. (1998). Epidemiology of CSF in wild boar in Toscana. In: *Report on Measures to Control Classical Swine Fever in European Wild Boar, Commission of the European Communities, Brussels*:62-66.
- Ferroglio, E., Acutis, P.L., Masoero, L., Gennero, S. & Rossi, L. (2003). Indagine sierologica su una popolazione di cinghiali nelle alpi occidentali. *J. Mt. Ecol.* 7:225-228.
- Fleischer, W. (1993). Epidemiologische Untersuchungen zum Vorkommen pneumotroper Erreger in ausgewählten Schweinemastbeständen im Regierungsbezirk Chemnitz des Freistaates Sachsen. Hannover, Tierärztl. Hochschule, Diss.
- Forsberg, R., Oleksiewicz, M.B., Petersen, A.M., Hein, J., Bøtner, A. & Storgaard, T. (2001). A molecular clock dates the common ancestor of European-type porcine reproductive and respiratory syndrome virus at more than 10 years before the emergence of disease. *Virology* 289:174-179.

- Forsberg, R., Storgaard, T., Nielsen, H.S., Oleksiewicz, M.B., Cordioli, P., Sala, G., Hein, J. & Bøtner, A. (2002). The genetic diversity of European type PRRSV is similar to that of the North American type but is geographically skewed within Europe. *Virology* 299:38-47.
- Freese, W.R. & Joo, H.S. (1994). Cessation of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus spread in a commercial swine herd. *J. Swine Health Prod.* 2:13-15.
- Frey, J. (1995). Virulence in *Actinobacillus pleuropneumoniae* and RTX toxins. *Trends Microbiol.* 3:257-261.
- Frey, J., Bossé, J.T., Chang, Y.F., Cullen, J.M., Fenwick, B., Gerlach, G.-F., Gygi, D., Haesebrouck, D.F., Inzana, T.J. & Jansen, R. (1993). *Actinobacillus pleuropneumoniae* RTX-toxins: uniform designation of haemolysins, cytotoxins, pleurotoxin and their genes. *J. Gen. Microbiol.* 139:1723-1728.
- Fritze, U. (1983). Rhinitis atrophicans beim europäischen Wildschwein (*Sus scrofa scrofa* L. 1758) nach natürlicher und experimenteller Infektion. Hannover, Tierärztl. Hochschule, Diss.
- Fritze, U. (1986). Rhinitis atrophicans beim europäischen Wildschwein (*Sus scrofa scrofa* L. 1758). *Prakt. Tierarzt* 67:33.
- Fritzemeier, J., Greiser-Wilke, I., Depner, K. & Moennig, V. (1998). Characterization of CSF virus isolates originating from German wild boar. In: *Report on Measures to Control Classical Swine Fever in European Wild Boar, Commission of the European Communities, Brussels*:107-109.
- Fritzemeier, J., Teuffert, J., Greiser-Wilke, I., Staubach, C., Schluter, H. & Moennig, V. (2000). Epidemiology of classical swine fever in Germany in the 1990s. *Vet. Microbiol.*, 77:29-41.
- Furesz, S.E., Mallard, B.A., Bossé, J.T., Rosendal, S., Wilkie, B.N. & MacInnes, J.I. (1997). Antibody- and cell-mediated immune responses of *Actinobacillus pleuropneumoniae*-infected and bacterin-vaccinated pigs. *Infect. Immun.* 65:358-365.

- Fussing, V., Barfod, K., Nielsen, R., Møller, K., Nielsen, J.P., Wegener, H.C. & Bisgaard, M. (1998). Evaluation and *APPL*ication of ribotyping for epidemiological studies of *Actinobacillus pleuropneumoniae* in Denmark. *Vet. Microbiol.* 62:145-162.
- Fussing, V., Nielsen, J.P., Bisgaard, M. & Meyling, A. (1999). Development of a typing system for epidemiological studies of porcine toxinproducing *Pasteurella multocida* ssp. *multocida* in Denmark. *Vet. Microbiol.* 65:61-74.
- Gagnon, C.A. & Dea, S. (1998). Differentiation between porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolates by restriction fragment length polymorphism of their ORFs 6 and 7 genes. *Can. J. Vet. Res.* 62:110-116.
- Galina, L., Pijoan, C., Sitjar, M., Christianson, W.T., Rossow, K. & Collins, J.E. (1994). Interaction between *Streptococcus suis* serotype 2 and porcine reproductive and respiratory syndrome virus in specific pathogen-free piglets. *Vet. Rec.* 134:60-64.
- Ganter, M. & Amtsberg, G. (1996). Alte und neue Probleme durch *Streptococcus suis* Infektionen. *Prakt. Tierarzt* 77:41-43.
- Gardner, I.A., Kasten, R., Eamens, G.J., Snipes, K.P. & Anderson, R.J. (1994). Molecular fingerprinting of *Pasteurella multocida* associated with progressive atrophic rhinitis in swine herds. *J. Vet. Diagn. Invest.* 6:442-447.
- Geue, A. (1995). Untersuchungen zur Prävalenz und Inzidenz des Porcine Reproductive and Respiratory Syndrom (PRRS) in einem Kreis Schleswig Holsteins. Berlin, Freie Univ., Fachber. Veterinärmed., Diss.
- Gilbert, S.A., Larochele, R., Magar, R., Cho, H.J. & Deregt, D. (1997). Typing of porcine reproductive and respiratory syndrome viruses by a multiplex PCR assay. *J. Clin. Microbiol.* 35:264-267.
- Gipson, P.S., Veatch, J.K., Matlack, R.S. & Jones, D.P. (1999). Health status of a recently discovered population of feral swine in Kansas. *J. Wildl. Dis.* 35(3), 624-627.
- Glässer, K. (1910). Untersuchungen über die Schweineseuche mit besonderer Berücksichtigung ihrer Ätiologie and Pathologie. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 18:729-733.

- Gois, M., Barnes, H.J. & Ross, R.F. (1983). Potentiation of turbinate atrophy in pigs by long-term nasal colonization with *Pasteurella multocida*. *Am. J. Vet. Res.* 44:372-278.
- Goldberg, T.L., Hahn, E.C., Weigel, R.M. & Scherba, G. (2000). Genetic, geographical and temporal variation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in Illinois. *J. Gen. Virol.* 81:171-179.
- Goodwin, R.F.W. (1972). Isolation of *Mycoplasma suis* pneumoniae from the nasal cavities and lungs of pigs affected with enzootic pneumonia or exposed to this infection. *Res. Vet. Sci.* 13:262-267.
- Goodwin, R.F.W. (1984). Apparent reinfection of enzootic-pneumonia-free pig herds: Early signs and incubation period. *Vet. Rec.* 115:320-324.
- Goodwin, R. F. W., Pomeroy, A. P. & Whittlestone, P. (1965). Production of enzootic pneumonia in pigs with a mycoplasma. *Vet. Rec.* 77, 1247-1249.
- Gortázar, C., Acevedo, P., Ruiz-Fons, F., Vicente, J. (2006). Disease risks and overabundance of game species. *Eur. J. Wildl. Res.* 52, 81-87.
- Gortázar, C., Vicente, J., Fierro, Y., Leon, L., Cubero, M.J. & Gonzales, M. (2002) Natural Aujeszky's disease in a Spanish wild boar population. *In: Annals of the New York Academy of Sciences* 969:210-212.
- Gottschalk, M., Higgins, R., Jacques, M., Beaudoin, M. & Henrichsen, J. (1991a). Isolation and characterization of *Streptococcus suis* capsular types 9-22. *J. Vet. Diagn. Invest.* 3:60-65.
- Gottschalk, M., Higgins, R., Jacques, M., Beaudoin, M. & Henrichsen, J. (1991b). Characterization of six new capsular types (23 through 28) of *Streptococcus suis*. *J. Clin. Microbiol.* 29:2590-2594.
- Gottschalk, M., Higgins, R., Jacques, M., Mittal, K.R. & Henrichsen, J. (1989). Description of 14 new capsular types of *Streptococcus suis*. *J. Clin. Microbiol.* 27:2633-2636.

- Gourreau, J.M., Kaiser, C., Hannoun, C., Vaissaire, J. & Gayot, G. (1980). Premier isolement en France du virus de l'influenza du porc (Hsw1N1) dans un environnement pathologique plurimicrobien. *Bull. Acad. Vet.* 53:181-188.
- Gourreau, J.M., Kaiser, C., Valette, M., Douglas, A.R., Labie, J. & Aymard, M. (1994). Isolation of two H1N2 influenza viruses from swine in France. *Arch. Virol.* 135: 365-382.
- Gradil, C., Dubuc, C. & Eaglesome, M.D. (1996). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus: seminal transmission. *Vet. Rec.* 138:521-522.
- Groschup, M.H., Brun, A. & Haas, B. (1993). Serological studies on the potential synergism of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and influenza-, corona- and paramyxoviruses in the induction of respiratory symptoms in swine. *J. Vet. Med. B* 40:681-689.
- Grosse Beilage, E. (1999). Klinische und serologische Verlaufsuntersuchungen zu Prävalenz, Inzidenz und Interaktionen viraler und bakterieller Infektionen des Respirationstraktes von Mastschweinen. Hannover, Tierärztl. Hochsch., Habil.-Schr.
- Grosse Beilage, E., Salge, H.J., Krabbe, H. & Blaha, T. (1991). Untersuchungen zur Epidemiologie des Seuchenhaften Spätaborts der Zuchtsauen (PRRS). *Prakt. Tierarzt, colleg. Vet.* XXII:62-64.
- Gunnarson, A. (1980). *Haemophilus pleuropneumoniae* syn *parahaemolyticus*. An antigenic and diagnostic study, Thesis, Uppsala, Sweden 1980.
- Gutiérrez-Martín, C.B., Rodríguez-Delgado, Ó., Álvarez-Nistal, D., De La Puente-Redondo, V.A., García-Rioja, F., Martín-Vicente, J. & Rodríguez Ferri, E.F. (2000). Simultaneous serological evidence of *Actinobacillus pleuropneumoniae*, PRRS, Aujeszky's disease and influenza viruses in Spanish finishing pigs. *Res. Vet. Sci.* 68:9-13.
- Haesebrouck, F., Biront, P., Pensaert, M.B. & Leunen, J. (1985). Epizootics of respiratory tract disease in swine in Belgium due to H3N2 influenza virus and experimental reproduction of disease. *Am. J. Vet. Res.* 46:1926-1928.

- Hahn, E.C., Page, G.R., Hahn, P.S., Gillis, K.D., Romero, C., Anelli, J.A. & Gibbs, E.P.J. (1997). Mechanisms of transmission of Aujeszky's disease virus originating from feral swine in the USA. *Vet. Microbiol.* 55:123-130.
- Halbur, P.G. (1998). Porcine respiratory disease. *In: Proceedings of the International Pig Veterinary Society Congress* 15:1-10.
- Halbur, P.G., Paul, P.S., Frey, M. L., Landgraf, J., Eernisse, K., Meng, X.J., Andrews, J.J., Lum, M.A. & Rathje, J.A. (1996a). Comparison of the antigen distribution of two US porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolates with that of the Lelystad virus. *Vet. Pathol.* 33:159-170.
- Halbur, P.G., Paul, P.S., Meng, X.J., Lum, M.A., Andrews, J.J. & Rathje, J.A. (1996b). Comparative pathogenicity of nine US porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) isolates in a five-week-old cesarean-derived, colostrum-deprived pig model. *J. Vet. Diagn. Invest.* 8:11-20.
- Hall, W.F., Bane, D.P., Kilroy, C.R. & Essex-Sorlie, D.L. (1990). A model for the induction of *Pasteurella multocida* type-A pneumonia in pigs. *Can. J. Vet. Res.* 54:238-243.
- Hanada, K., Suzuki, Y., Nakane, T., Hirose, O. & Gojobori, T. (2005). The origin and evolution of porcine reproductive and respiratory syndrome viruses. *Mol. Biol. Evol.* 22:1024-1031.
- Harms, P.A., Sorden, S.D., Halbur, P.G., Bolin, S.R., Lager, K.M., Morozov, I. & Paul, P.S. (2001). Experimental reproduction of severe disease in CD/CD pigs concurrently infected with type 2 porcine circovirus and porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Vet. Pathol.* 38:528-539.
- Havenith, U. (1993). Seroepidemiologische Untersuchungen zur Verbreitung von Influenza-A-Virusinfektionen bei Mastschweinen im nördlichen Schleswig-Holstein. Berlin, Freie Univ., Fachbereich Veterinärmed., Diss.
- Heard, T. (1991). *Streptococcus suis* type 2 in British pig herds. *In: E. Boden (Hrsg.), Swine Practice, Baillière Tindall, London:*105-114.
- Hege, R., Zimmermann, W., Scheidegger, R. & Stärk, K.D.C. (2002). Reinfections of pig farms with EP and A. pp. in respiratory-disease-free regions of Switzerland – a search for causes. *In: 17th Congr. Int. Pig Vet. Soc., Ames, Iowa, U.S.A., Proc.:*216

- Heinritzi, K., Aigner, K., Erber, M., Kersjes, C. & Wangenheim, B. (1999). Brucellose und Aujeszky-Krankheit in einem Wildschweingatter. Fallbeschreibung. *Tierärztl. Praxis* G. 27:41-46.
- Henning, I. (1997). Untersuchung der Bakterien-Wirt-Interaktion bei der Infektion des Schweines mit *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss.
- Hensel, A., Ganter, M., Kipper, S., Krehon, S., Wittenbrink, M.M. & Petzoldt, K. (1994). Prevalence of aerobic bacteria in bronchoalveolar lavage fluids from healthy pigs. *Am. J. Vet. Res.* 55:1697-1702.
- Hensel, A., Huter, V., Katinger, A., Raza, P., Strnistschie, C., Roesler, U., Brand, E. & Lubitz, W. (2000). Intramuscular immunization with genetically inactivated (ghosts) *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 9 protects pigs against homologous aerosol challenge and prevents carrier state. *Vaccine* 18:2945-2955.
- Higgins, R. & Gottschalk, M. (1999). Streptococcal diseases. In: *Straw, B.E., D'Allaire, S., Mengeling, W.L., Taylor, D.J. (Eds.), Diseases of Swine, 8th ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA:563-570.*
- Higgins, R., Gottschalk, M., Boudreau, M., Lebrun, A. & Henrichsen, J. (1995). Description of six new capsular types (29-34) of *Streptococcus suis*. *J. Vet. Diagn. Invest.* 7, 405-406.
- Hiltermann-Linden, E. (2004). Vergleich von Methoden zum Nachweis von *Mycoplasma hyopneumoniae*-Infektionen beim Schwein sowie epidemiologische Untersuchungen über die Verbreitung der Enzootische Pneumonie im Weser-Ems Gebiet im Jahre 1996. Hannover, Tierärztliche Hochschule, Diss.
- Hoffmann, C.R. & Bilkei, G. (2002). The effect of a homologous bacterin given to sows prefarrowing on the development of Glässer's disease in postweaning pigs after i.v. challenge with *Haemophilus parasuis* serotype 5. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 109:271-276.
- Hogg, A., Amass, S.F., Hoffman, L.J., Wu, C.C. & Clark, L.K. (1996). A survey of *Streptococcus suis* isolations by serotyp and tissue of origin. In: *Proc. Am. Assoc. Swine Pract.*:79-81.

- Horst, I., Lindner, A., Krüger, M., Gindele, H.R. & Sting, R. (1997). Verbreitung der Mycoplasma-hyopneumoniae-Infektion in Deutschland-Schlussfolgerungen für die Bekämpfung der Enzootischen Pneumonie der Schweine. *Tierärztl. Umsch.* 52:508-514.
- Horter, D.C., Pogranichniy, R.M., Chang, C.C., Evans, R.B., Yoon, K.J. & Zimmerman, J.J. (2002). Characterization of the carrier state in porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection. *Vet. Microbiol.* 86:213- 228.
- Houben, S., Van Reeth, K. & Pensaert, M.B. (1995). Pattern of infection with the porcine reproductive and respiratory syndrome virus on swine farms in Belgium. *J. Vet. Med. B* 42:209-215.
- Howard, C.J. & Taylor, G. (1985). Immune responses to mycoplasma infections of the respiratory tract. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 10:3-32.
- Howarth, J.A. (1969). A serologic study of pseudorabies in swine. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 154:1583-1589.
- Hudson, P.J., Rizzoli, A., Grenfell, B.T., Heesterbeek, H. & Dobson, A.P. (2002). *The Ecology of Wildlife Diseases.* Oxford University Press, New York.
- Iglesias, J.G., Trujano, M. & Xu, J. (1992). Inoculation of pigs with Streptococcus suis type 2 alone or in combination with pseudorabies virus. *Am. J. Vet. Res.* 53:364-367.
- Indik, S., Valicek, L., Klein, D. & Klanova, J. (2000). Variations in the major envelope glycoprotein GP5 of Czech strains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J. Gen. Virol.* 81 :2497-2502.
- Jedrzejewska, B., Jedrzejewski, W., Bunevich, A.N., Milkowski, L. & Krasinski, Z. (1997). Factors shaping population densities and increase rates on ungulates in Bialowieza Primeval Forest (Poland and Belarus) in the 19th and 20th century. *Acta Theriologica*, 42:399-451.
- Johnson, W., Roof, M., Vaughn, E., Christopher-Hennings, J., Johnson, C.R. & Murtaugh, M.P. (2004). Pathogenic and humoral immune responses to porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) are related to viral load in acute infection. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 102:233-247.

- Joo, H.S., Park, B.K., Dee, S.A. & Pijoan, C. (1997). Indirect fluorescent IgM antibody response of pigs infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Vet. Microbiol.* 55 :303-307.
- Kaden, V. (1998). Zur Situation der klassischen Schweinepest beim Wildschwein in der Europäischen Gemeinschaft und zu einigen Aspekten der Seuchenverbreitung. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* 111:201-207.
- Kaden, V. (1999). Bekämpfung der Klassischen Schweinepest beim Schwarzwild. *Z. Jagdwiss.* 45:45-59.
- Kaden, V. & Lange, B. (2001). Oral immunisation against classical swine fever (CSF): onset and duration of immunity. *Vet. Microbiol.* 82: 301-310.
- Kaden, V., Lange, E. & Faust, A. (2007). Impfung von Wildschweinen gegen Schweinepest - Erfahrungen aus einer mehr als 10-jährigen Anwendung in Deutschland. Friedrich-Loeffler-Institut, Greifswald-Insel Riems, Tierseuchen ForschungsReport 2/2007: 34-37.
- Kaden, V., Teifke, T.P. & Polster, U. (2001). Progressive atrophische Rhinitis-eine seltene Erkrankung beim Schwarzwild (*Sus scrofa scrofa* L. 1758). *Z. Jagdwiss.* 47:17-25.
- Kamp, E.M., Bokken, G.C., Vermeulen, T.M., de Jong, M.F., Buys H.E., Reek F.H. & Smits, M.A. (1996). A specific and sensitive PCR assay suitable for large-scale detection of toxigenic *Pasteurella multocida* in nasal and tonsillar swabs specimens of pigs. *J. Vet. Diagn. Invest.* 8:304-309.
- Kapur, V., Elam, M.R., Pawlovich, T.M. & Murtaugh, M.P. (1996). Genetic variation in porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolates in the midwestern United States. *J. Gen. Virol.* 77:1271-1276.
- Karge, E. (1994). Wild im epizootischen Prozeß. In: *Dedek & Steineck (Hrsg), Wildhygiene, Gustav Fischer Verlag Jena, Stuttgart*:42-47.
- Keffaber, K.K. (1989). Reproductive failure of unknown etiology. *Am. Assoc. Swine Prac. – Newsl* 1:1-10.

- Kern, B., Depner, K.R., Letz, W., Rott, M., Thalheim, S., Nitschke, B., Plagemann, R. & Liess, B. (1999). Incidence of classical swine fever (CSF) in wild boar in a densely populated area indicating CSF virus persistence as a mechanism for virus perpetuation. *J. Vet. Med. B – Inf. Dis. Vet. Pub. Health.* 46:63-67.
- Kielstein, P. (1987). Pasteurella-Infektionen. In: Neundorff, R. & Seidel, H.: *Schweinekrankheiten*, 3. Auflage, VEB Gustav Fischer, Jena:386-390.
- Kielstein, P., Martin, J. & Janetschke, P. (1977). Experimentelle Pasteurella-multocida-Infektion des Schweines als ein Beitrag zur enzootischen Pneumonie des Schweines. *Arch. Exp. Veterinärmed.* 31:609-619.
- Kilstein, P., Rassbach, A., Pöhle, D., Johannsen, U., Wiegand, M. & Schäfer, M. (1994). Zur Pathogenese der Haemophilus parasuis-Infektion des Schweines (Glässersche Krankheit). *Mh. Vet.- Med.* 49: 71-75.
- Kipper, S. (1990). Bronchoskopie bei Schweinen sowie mikrobiologische und zytologische Untersuchungen der bronchoalveolären Spülflüssigkeit. Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss.
- Knell, S.C. (2007). Epidemiologische Studie zur Verbreitung Porciner Circoviren beim Wildschwein in Deutschland. Gießen, Univ., Fachber. Veterinärmed., Diss.
- Kobisch, M., Blanchard, B. & Le Potier, M.F. (1993). Mycoplasma hyopneumoniae infection in pigs: duration of the disease and resistance to reinfection. *Vet. Res.* 24:67-77.
- Kobisch, M. & Pennings, A. (1989). An evaluation in pigs of Nobi-Vac AR and an experimental atrophic rhinitis vaccine containing Pasteurella multocida DNT-toxoid and Bordetella Bronchiseptica. *Vet. Rec.* 124:57-61.
- Komijn, R.E. (1991). The possible effect of weather conditions on the spread of the New Pig Disease. In: *EC Seminar "New" Pig Disease, Brussels, 29. - 30. April 1991.*
- Kramer, M., Teuffert, J., Müller, T., Haas, B. & Ohlinger, V.F. (1993). Untersuchungen zur Epidemiologie des Porcine Reproductive and Respiratory Syndrom (PRRS) in Deutschland. *Tierärztl. Umsch.* 48:490-498.

- Kramer-Schadt, S., Fernández, N. & Thulke, H.-H. (2007). Potential ecological and epidemiological factors affecting the persistence of classical swine fever in wild boar *Sus scrofa* populations. *Mammal Rev.* 37:1-20.
- Krejci, J., Nechvatalova, K., Kudlackova, H., Faldyna, M., Kucerova, Z. & Toman, M. (2005). Systemic and local antibody responses after experimental infection with *Actinobacillus pleuropneumoniae* in piglets with passive or active immunity. *J. Vet. Med. B - Infect. Dis. Vet. Public Health.* 52:190-196.
- Kyriakis, S.C. (2003). Evaluation of Porcilis PRRS® in the reduction of the effects of porcine circovirus type 2 (PCV2) on piglet health and performance on farm suffering from both porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) and post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). In: *PRRS Intervet Satellite symposium, 4th Int. symposium on Emerging and Re-emerging pig diseases, Rome 2003, Proc.*:8-14.
- Labarque, G.G., Nauwynck, H.J., Van Reeth, K. & Pensaert, M.B. (2000). Effect of cellular changes and onset of humoral immunity on the replication of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in the lungs of pigs. *J. Gen. Virol.* 81:1327-1334.
- Laddomada, A. (2000). Incidence and control of CSF in wild boar in Europe. *Vet. Microbiol.* 73:121-130.
- Lager, K.M. & Mengeling, W.L. (2000). Experimental aerosol transmission of pseudorabies virus and porcine reproductive and respiratory syndrome virus. In: *31st Annual Meeting of the American Association of Swine Practitioners. Indianapolis, USA 2000, Proc.*:409-410.
- Lager, K.M., Mengeling, W.L. & Brockmeier, S.L. (1996). Pathogenesis of fetal porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection during early and late gestation. In: *14th Congr. Int. Pig Vet. Soc., Bologna 1996, Proc.*:55.
- Lanza, I., Brown, I.H. & Paton, D.J. (1992). Pathogenicity of concurrent infection of pigs with porcine respiratory coronavirus and swine influenza virus. *Res. Vet. Sci.* 53: 309-314.
- Lapointe, L., D'Allaire, S., Lebrun, A., Lacouture, S. & Gottschalk, M. (2002). Antibody response to an autogenous vaccine and serologic profile for *Streptococcus suis* capsular type 1/2. *Can. J. Vet. Res.* 66:8-14.

- Lariviere, S., Leblanc, L., Mittal, K.R. & Martineau, G.P. (1992). Characterization of *Pasteurella multocida* from nasal cavities of piglets from farms with or without atrophic rhinitis. *J. Clin. Microbiol.* 30:1398-1401.
- Laube, P. (1996). Simulation der flächendeckenden Tilgung der Enzoootischen Pneumonie (EP) mit Hilfe eines geographischen Informationssystems. Zürich, Univ., Veterinärmed. Klinik, Diss.
- Leyk, W. (1991). Observations in three affected herds in North Rhine Westphalia. *In: Report of the First EC Seminar/Workshop on "The New Pig Disease, Porcine Reproductive And Respiratory Syndrom"*:3-4.
- Lindhaus, W. & Lindhaus, B. (1991). Rätselhafte Schweinekrankheit. *Prakt. Tierarzt* 72:423-425.
- Loeffen, W. (1996). Een inventarisatie van infectieuze agentia, voorkomend bij acute longenproblemen bij vleesvarkens. Gezondheidsdienst voor Dieren, Boxtel, Proefnummer 701.909
- Loeffen, W.L., Kamp, E.M., Stockhofe-Zurwieden, N., van Nieuwstadt, A.P., Bongers, J.H., Hunneman, W.A., Elbers, A.R., Baars, J., Nell, T. & van Zijderveld, F.G. (1999). Survey of infectious agents involved in acute respiratory disease in finishing pigs. *Vet. Rec.* 145:123-129.
- Loeffen, W.L., Nodelijk, G., Heinen, P.P., van Leengoed, L.A., Hunneman, W.A. & Verheijden, J.H. (2003). Estimating the incidence of influenza-virus infections in Dutch weaned piglets using blood samples from a cross-sectional study. *Vet. Microbiol.* 91:295-308.
- Loemba, H.D., Mounir, S., Mardassi, H., Archambault, D. & Dea, S. (1996). Kinetics of humoral immune response to the major structural proteins of the porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Arch. Virol.* 141:751-761.
- López, R., Mendoza, S., Esquivel, E., Romero, A., et al. (2004). Production of an immunofluorescent conjugate for the diagnosis of Glässer's disease using *Haemophilus parasuis* as an antigen. *In: 18th Congr. Int. Pig Vet. Soc., Hamburg 2004, Proc.*:210.

- Lutz, W. (1988). Verbiegungen des Gesichtsschädels beim Wildschwein (*Sus scrofa scrofa* L.1758) als mögliche Folge einer Rhinitis atrophicans. *Z. Jagdwiss.* 34:125-131.
- Lutz, W. (1996). Über den Fall eines verkürzten Wurfes beim Schwarzwild (*Sus scrofa* L. 1758). *Z. Jagdwiss.* 42:53-60.
- Lutz, W., Junghans, D., Schmitz, D. & Müller, T. (2003) A long-term survey of pseudorabies virus infections in European wild boar of western Germany. *Z. Jagdwiss.* 49:130-140.
- Lutz, W. & Wurm, R. (1996). Serologische Untersuchungen zum Nachweis von Antikörpern gegen Viren des Seuchenhaften Spätaborts, der Aujeszky'schen Krankheit, der Europäischen Schweinepest und Porcine Parvoviren beim Wildschwein (*Sus scrofa* L., 1758) in Nordrhein – Westfalen. *Z. Jagdwiss.* 42:123-133.
- Maes, D., Chiers, K., Haesebrouck, F., Laevens, H., Verdonck, M. & de Kruif A. (2001). Herd factors associated with the seroprevalences of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serovars 2, 3 and 9 in slaughter pigs from farrow-to-finish pig herds. *Vet. Res.* 32:409-419.
- Maes, D., Deluyker, H., Verdonck, M., Castryck, F., Miry, C., Vrijens, B. & de Kruif, A. (1999). Risk indicators for the seroprevalence of *Mycoplasma hyopneumoniae*, porcine influenza viruses and Aujeszky's disease virus in slaughter pigs from fattening pig herds. *Zentralbl. Veterinarmed. B.* 46:341-352.
- Maes, D., Deluyker, H., Verdonck, M., Castryck, F., Miry, C., Vrijens, B. & de Kruif, A. (2000). Herd factors associated with the seroprevalences of four major respiratory pathogens in slaughter pigs from farrow-to-finish pig herds. *Vet. Res.* 31:313-327.
- Maes, D., Verdonck, M., Deluyker, H. & De Kruif, A. (1996). Enzootic pneumonia in pigs. *Vet. Q.* 18:104-109.
- Magar, R., Larochelle, R., Dea, S., Gagnon, C.A., Nelson, E.A., Christopher-Hennings, J. & Benfield, D.A. (1995). Antigenic comparison of Canadian and US isolates of porcine reproductive and respiratory syndrome virus using monoclonal antibodies to the nucleocapsid protein. *Can. J. Vet. Res.* 59:232-234.

- Mardassi, H., Mounir, S. & Dea, S. (1994). Identification of major differences in the nucleocapsid protein genes of a Quebec strain and European strains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J. Gen. Virol.* 75:681-685.
- Mare, C.J. & Switzer, W.P. (1965). New species: *Mycoplasma hyopneumoniae*, a causative agent of virus pig pneumonia. *Vet. Med.* 60:841-846.
- Markowska-Daniel, I. (2003). Monitoring of swine influenza in Poland in the season 2001/2002. In: *4th Int. symposium on Emerging and Re-emerging pig diseases, Rome 2003, Proc.*:277-278.
- Markowska-Daniel, I. & Pejsak, Z. (1999). Serological prevalence of Influenza virus in pigs and wild boar in Poland. *Medycyna Weterynaryjna* 55:302-305.
- Markowska-Daniel, I., Szczotka, A. & Fertig, P. (2004). Monitoring study on prevalence of *Streptococcus suis* infections in pigs with respiratory disorders. In: *18th Congr. Int. Pig Vet. Soc., Hamburg 2004, Proc.*
- Massei, G., Genov, P.V. & Staines, B.W. (1996). Diet, food availability, and reproduction of wild boar in a Mediterranean coastal area. *Acta Theriologica*, 41:307-320.
- Massei, G., Genov, P.V., Staines, B.W. & Gorman, M.L. (1997). Mortality of wild boar in a Mediterranean area in relation to sex and age. *Journal of Zoology (London)* 242:394-400.
- McCaw, M.B. & Henry, S. (1995). Elimination of PRRS associated disease losses from a 4000 sow herd without vaccination or depopulation. In: *2nd Inter. Symp. PRRS, Copenhagen 1995, Proc.*:33.
- Meier, W., Wheeler, J.G., Husmann, R.J., Osorio, F.A. & Zuckermann, F. (2000). Characteristics of the immune response of pigs to PRRS virus. *Vet. Res.* 31:41.
- Meier, W.A., Galeota, J., Osorio, F.A., Husmann, R.J., Schnitzlein, W.M. & Zuckermann, F.A. (2003). Gradual development of the interferon-gamma response of swine to porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection or vaccination. *Virology* 309:18-31.

- Meng, X.J., Paul, P.S., Halbur, P.G. & Lum, M.A. (1995). Phylogenetic analyses of the putative M (ORF 6) and N (ORF 7) genes of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV): implication for the existence of two genotypes of PRRSV in the U.S.A. and Europe. *Arch. Virol.* 140:745-755.
- Mengeling, W.L., Lager, K.M. & Vorwald, A.C. (1994). Temporal characterization of transplacental infection of porcine fetuses with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Am. J. Vet. Res.* 55:1391-1398.
- Mengeling, W.L., Lager, K.M. & Vorwald, A.C. (1998). Clinical consequences of exposing pregnant gilts to strains of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus isolated from field cases of "atypical" PRRS. *Am. J. Vet. Res.* 59:1540-1544.
- Mengeling, W.L., Vorwald, A.C., Lager, K.M. & Brockmeier, S.L. (1996). Comparison among strains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus for their ability to cause reproductive failure. *Am. J. Vet. Res.* 57:834-839.
- Menšík, J. (1966). The formation and dynamism of antibodies in swine influenza. V. A long-term depression of the antibody formation in the progeny of hyperimmune mothers. *Vet. Med.* 11:589-595.
- Meredith, M.J. (1995). Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS). ISBN 0-9520409-7-2. *Pig Disease Information Centre, Cambridge.*
- Meyers, G. & Thiel, H.-J. (1996). Molecular characterization of pestiviruses. *Advances in Virus Research* 47:53-118.
- Minion, F.C., Adams, C. & Hsu, T. (2000). R1 region of P97 mediates adherence of *Mycoplasma hyopneumoniae* to swine cilia. *Infect. Immun.* 68:3056-3060.
- Mittal, K.R., Higgins, R., Lariviere, S. & Nadeau, M. (1992). Serological characterization of *Actinobacillus pleuropneumoniae* strains isolated from pigs in Quebec. *Vet. Microbiol.* 32:135-148.
- Moennig, V., Albina, E., Depner, K., Ferrari, G., Guberti, V. & Vassant, J. (1999). Classical Swine Fever in Wild Boar. *Document XXIV/B3/R09/1999. European Commission.*

- Moennig, V. & Plagemann, G.W. (1992). The pestiviruses. *Adv. Virus Res.* 41:53-98.
- Molitor, T.W., Bautista, E.M. & Choi, C.S. (1997). Immunity to PRRSV: double-edged sword. *Vet. Microbiol.* 55:265-276.
- Mollison, D. & Levin, S.A. (1995). Spatial dynamics of parasitism. *In: Ecology of Infectious Diseases in Natural Populations (Ed. by B.T. Grenfell & A.P. Dobson), Cambridge University Press, Cambridge, UK:384–398.*
- Morozov, I., Meng, X.J. & Paul, P.S. (1995). Sequence analysis of open reading frames (ORFs) 2 to 4 of a U.S. isolate of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Arch. Virol.* 140:1313-1319.
- Morris, C.R., Gardner, I.A., Hietala, S.K., Carpenter, T.E., Anderson, R.J. & Parker, K.M. (1995). Seroepidemiologic study of natural transmission of *Mycoplasma hyopneumoniae* in a swine herd. *Prev. Vet. Med.* 21:323-337.
- Mortensen, S., Stryhn, H., Søgaaard, R., Boklund, A., Stärk, K.D., Christensen, J. & Willeberg, P. (2002). Risk factors for infection of sow herds with porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus. *Prev. Vet. Med.* 53:83-101.
- Müller, C., Doherr, M., Egli, C., Sicher, D., et al. (2004). *Haemophilus parasuis* infection: vaccination and serological follow-up. *In: 18th Congr. Int. Pig Vet. Soc., Hamburg 2004, Proc.:817.*
- Müller, T., Conraths, F.J. & Hahn, E.C. (2000). Pseudorabies virus infection (Aujeszky's disease) in wild swine. *Infect. Dis. Rev.* 2: 27-34.
- Müller, T., Teuffert, J., Staubach, C., Selhorst, T. & Depner, K.R. (2005). Long-term studies on maternal immunity for Aujeszky's disease and classical swine fever in wild boar piglets. *J. Vet. Med. B- Infect. Dis. Vet. Public Health.* 52:432-436.
- Müller, T.F., Teuffert, J., Zellmer, R. & Conraths, F.J. (2001). Experimental infection of European wild boar and domestic pigs with pseudorabies viruses with differing virulence. *Am. J. Vet. Res.* 62:252-258.
- Müller, T., Teuffert, J., Ziedler, K., Possardt, C., Kramer, M., Staubach, C. & Conraths, F.J. (1998). Pseudorabies in the European wild boar from eastern Germany. *J. Wildl. Dis.* 34:251-258.

- Murtaugh, M.P., Xiao, Z. & Zuckermann, F. (2002). Immunological responses of swine to porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection. *Viral. Immunol.* 15:533-547.
- Nakamura, R.M., Easterday, B.C., Pawlisch, R. & Walker, G.L. (1972). Swine Influenza: epizootiological and serological studies. *Bull. World Health Organization* 47:481-487.
- Narita, M. & Ishii, M. (2004). Encephalomalacic lesions in pigs dually infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus and pseudorabies virus. *J. Comp. Pathol.* 131:277-284.
- Narita, M. & Ishi, M. (2006). Brain lesions in pigs dually infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus and pseudorabies virus. *J. Comp. Pathol.* 134:111-114.
- Nelsen, C.J., Murtaugh, M.P. & Faaberg, K.S. (1999). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus comparison: divergent evolution on two continents. *J. Virol.* 73:270-280.
- Nielsen, J., Bøtner, A., Bille-Hansen, V., Oleksiewicz, M.B. & Storgaard, T. (2002). Experimental inoculation of late term pregnant sows with a field isolate of porcine reproductive and respiratory syndrome vaccine-derived virus. *Vet. Microbiol.* 84:1-13.
- Nielsen, R. (1970). Pleuropneumoni hos svin, fremkaldt af *Haemophilus parahaemolyticus*. 1. Kliniske, patalogisk-anatomiske og epidemiologiske undersøgeleser. *Nord. Vet. Med.* 22:240-245.
- Nielsen, R. (1975). Colostral transfer of immunity to *Haemophilus parahaemolyticus* in pigs. *Nord. Vet. Med.* 27:319-328.
- Nielsen, R. (1988). Seroepidemiology of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Can. Vet. J.* 29:580-582.
- Nielsen, R. & Danielsen, V. (1975). An outbreak of Glässer's Disease. *Nord. Vet. Med.* 27: 20-25.

Nienhoff, H. (2005). Vor Streptokokken ist keiner sicher. *Top agrar*, 10:10-13.

Nodelijk, G., de Jong, M.C.M., van Nes, A., van Leengoed, L.A.M.G., Pol, J.M.A. & Verheijden, J.H.M. (1998). Introduction, persistence and fade-out of PRRSV in a dutch breeding farm: a mathematical approach. *In: 15th Congr. Int. Pig Vet. Soc., Birmingham 1998, Proc.:259.*

Ohlinger, V., Haas, B., Saalmuller, A., Beyer, J., Teuffert, J., Visser, N. & Weiland, F. (1992). In vivo and in vitro studies on the immunobiology of PRRS. *American Assoc. Swine Practitioners-1st Int. PRRS Symp., Proc.:24.*

Ohlinger, V.F., Pesch, S. & Bischoff, C. (2000). History, occurrence, dynamics and current status of PRRS in Europe. *Vet. Res.* 31:86-87.

Okarma, H., Jedrzejewska, B., Jedrzejewski, W., Krasinski, Z. & Milkowski, L. (1995). The roles of predation, snow cover, acorn crop, and man-related factors on ungulate mortality in Bialowieza Primeval Forest, Poland. *Acta Theriologica*, 40:197-217.

Oliveira, S., Galina, L. & Pijoan, C. (2001). Development of a PCR test to diagnose *Haemophilus parasuis* infections. *J. Vet. Diagn. Invest.* 13:495-501.

Oliveira, S. & Pijoan, C. (2002). Diagnosis of *Haemophilus parasuis* in affected herds and use of epidemiological data to control disease. *J. Swine Health Prod.* 10:221-225.

Oliveira, S. & Pijoan, C. (2004). *Haemophilus parasuis*: new trends on diagnosis, epidemiology and control. *Vet. Microbiol.* 99:1-12.

Oliveira, S., Pijoan, C. & Morrison, R. (2002). The role of *Haemophilus parasuis* in nursery mortality. *In: A.D. Leman Swine Conf., St. Paul 2002, Proc.:111-113.*

Olvera, A., Cerdà-Cuellar, M., Mentaberre, G., Casas-Díaz, E., Lavin, S., Marco, I. & Aragon, V. (2007). First isolation of *Haemophilus parasuis* and other NAD-dependent Pasteurellaceae of swine from European wild boars. *Vet. Microbiol.* 125:182-186.

- Opriessnig, T., Yu, S., Meng, X.J., Thacker, E.L. & Halbur P.G. (2004). PCV2 and *Mycoplasma hyopneumoniae* coinfection model. *In: 18th Congr. Int. Pig Vet. Soc., Hamburg 2004, Proc.*:95.
- Ose, E.E. & Tonkinson, L.V. (1990). Effect of pasteurellosis on lung lesions and mortality in *Mycoplasma hyopneumoniae*-infected pigs. *In: 11th Congr. Int. Pig Vet. Soc., Lausanne 1990, Proc.*:94.
- Oslage, U., Dahle, J., Müller, T., Kramer, M., Beier, D. & Liess, B. (1994). Prevalence of antibodies against the viruses of European swine fever, Aujeszky's disease and "porcine reproductive and respiratory syndrome" in wild boars in the federal states Sachsen-Anhalt and Brandenburg. *Dtsch. Tierärztl. Wochenschr.* 101:33-38.
- Otake, S., Dee, S.A., Moon, R.D., Rossow, K.D., Trincado, C. & Pijoan, C. (2004). Studies on the carriage and transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by individual houseflies (*Musca domestica*). *Vet. Rec.* 154:80-85.
- Otake, S., Dee, S.A., Rossow, K.D., Joo, H.S., Deen, J., Molitor, T.W. & Pijoan, C. (2002a). Transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by needles. *Vet. Rec.* 150:114-115.
- Otake, S., Dee, S.A., Rossow, K.D., Moon, R.D. & Pijoan, C. (2002b). Mechanical transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by mosquitoes, *Aedes vexans* (Meigen). *Can J Vet Res.* 66:191-195. Erratum in: *Can J. Vet. Res.* 66:294.
- Otake, S., Dee, S.A., Rossow, K.D., Moon, R.D., Trincado, C. & Pijoan, C. (2003). Transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by houseflies (*Musca domestica*). *Vet. Rec.* 152:73-76.
- Ottis, K., Bollwahn, P.A. & Heinritzi, K. (1981). Ausbruch von SchweinenInfluenza in der Bundesrepublik Deutschland: Klinik, Nachweis und Differenzierung. *Tierärztl. Umsch.* 36:608-612.
- Ottis, K., Sidoli, L., Bachmann, P.A., Webster, R.G. & Kaplan, M.M. (1982). Human influenza A viruses in pigs: Isolation of a H3N2 strain antigenically related to A/England/42/72 and evidence for continuous circulation of human viruses in the pig population. *Arch. Virol.* 73:103-108.

- Palese, P. & Young, J.F. (1982). Variation of Influenza A, B, and C viruses. *Science* 215:1468-1474.
- Pallarés, F.J., Halbur, P.G., Schmitt, C.S., Roth, J.A., Opriessnig, T., Thomas, P.J., Kinyon, J.M., Murphy, D., Frank, D.E. & Hoffmann, L.J. (2003). Comparison of experimental models for *Streptococcus suis* infection of conventional pigs. *Can. J. Vet. Res.* 67:225-228.
- Palzer, A., Ritzmann, M., Wolf, G. & Heinritzi, K. (2005). Erregernachweis aus bronchoalveolärer Lavage bei Schweinen mit Atemwegserkrankungen. *Tierärztl. Umsch.* 60:550-556.
- Park, B.K., Yoon, I.J. & Joo, H.S. (1996). Pathogenesis of plaque variants of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in pregnant sows. *Am. J. Vet. Res.* 57:320-323.
- Paton, D.J., McGoldrick, A., Greiser-Wilke, I., Parchariyanon, S., Song, J.-Y., Liou, P. P., Stadejek, T., Lowings, J.P., Björklund, H. & Belak, S. (2000). Genetic typing of classical swine fever virus. *Vet. Microbiol.* 73:137-157.
- Penny, R.H.C. (1977). The influence of management changes on the disease picture in pigs. *Vet. Annu.* 17:111.
- Perch, B., Pedersen, K.B. & Henrichsen, J. (1983). Serology of capsulated streptococci pathogenic for pigs: six new serotypes of *Streptococcus suis*. *J. Clin. Microbiol.* 17:993-996.
- Pesch, S. (2003). Etablierung für die zwei Genotypen von PRRS und ein Beitrag zu einer molekularen Epidemiologie. Universität Leipzig, Veterinärmedizinische Fakultät, Diss.
- Pesch, S., Johannsen, U., Strijkstra, G. & Ohlinger, V.F. (2003). Screening for pathogens in PCV2 associated diseases. In: *4th Int. Symposium on Emerging and Re- Emerging Pig diseases. Rome, Proc.*:205-206.
- Pesch, S., Schmidt, U. & Ohlinger, V.F. (2000). Proliferative necrotizing pneumonia (PNP) is a result of coinfection with porcine reproductive and respiratory disease virus (PRRSV) and porcine circovirus type 2 (PCV2). In: *16th International Congress on Pigs Veterinary Society, Proc.*:581.

- Pfützner, H. & Blaha, T. (1995). Die ätiologische und ökonomische Bedeutung von *Mycoplasma hyopneumoniae* im Komplex der respiratorischen Erkrankungen des Schweines. *Tierärztl. Umsch.* 50:759-765.
- Piffer, I.A. & Ross, R.F. (1984). Effect of age on susceptibility of pigs to *Mycoplasma hyopneumoniae* pneumonia. *Am. J. Vet. Res.* 45:478-481.
- Pijoan, C. (1996). Bacterial respiratory pathogenes: What is their impact? *In: 4th Annu. Swine Dis. Conf. Swine Pract, Proc.*:45-47.
- Pijoan, C. & Fuentes, M. (1987). Severe pleuritis associated with certain strains of *Pasteurella multocida* in swine. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 191:823-826.
- Pijoan, C., Lastra, A., Ramirez, C. & Leman, A.D. (1984). Isolation of toxigenic strains of *Pasteurella multocida* from lungs of pneumonic swine. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 185:522-523.
- Pijoan, C., Morrison, R.B. & Hilley, H.D. (1983). Serotyping of *Pasteurella multocida* isolated from swine lungs collected at slaughter. *J. Clin. Microbiol.* 17:1074-1076.
- Pijoan, C. & Oliveira, S. (2003). *Haemophilus parasuis*: trends and new knowledge. *Am. Assoc. Sw. Vet.*:401-403.
- Pirtle, E.C. & Beran, G.W. (1996). Stability of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in the presence of fomites commonly found on farms. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 208 :390-392.
- Pirzadeh, B., Gagnon, C.A. & Dea, S. (1998). Genomic and antigenic variations of porcine reproductive and respiratory syndrome virus major envelope GP5 glycoprotein. *Can. J. Vet. Res.* 62:170-177.
- Plagemann, P.G. (2003). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus: origin hypothesis. *Emerg. Infect. Dis.* 9:903-908.

- Pohl, S., Bertschinger, H.U., Frederiksen, W. & Manheim, W. (1983). Transfer of *Haemophilus pleuropneumoniae* and the *Pasteurella haemolytica*-like organism causing porcine necrotic pleuropneumonia to the genus *Actinobacillus* (*Actinobacillus pleuropneumoniae* comb. nov.) on the basis of phenotypic and deoxyribonucleic acid relatedness. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 33:510-514.
- Pol, J.M., van Leengoed, L.A., Stockhofe, N., Kok, G. & Wensvoort, G. (1997). Dual infections of PRRSV/Influenza or PRRSV/*Actinobacillus pleuropneumoniae* in the respiratory tract. *Vet. Microbiol.* 55:259-64.
- Pöhle, D., Johannsen, U., Kielstein, P., Raßbach, A. & Wiegand, M. (1992). Investigations on pathology and pathogenesis of *Haemophilus parasuis* infection of swine. In: *12th Congr. Int. Pig Vet. Soc., Den Haag 1992, Proc.*:335.
- Poppe, B. (1997). Untersuchungen zur Prävalenz von *Actinobacillus pleuropneumoniae*-Antikörpern bei Mastschweinen unter Berücksichtigung betriebsspezifischer Einflussfaktoren und klinische Prüfung der Wirksamkeit einer *Actinobacillus pleuropneumoniae*-Subunit-Vakzine. Hannover, Tierärztliche Hochschule, Diss.
- Rachel, Y.R., Glickman, L.T., Harrington, D.D., Thacker, H.L. & Bowersock, T.L. (1994). *Streptococcus suis* infection in swine: a retrospective study of 256 cases. Part II. Clinical signs, gross and microscopic lesions, and coexisting microorganisms. *J. Vet. Diagn. Invest.* 6:326-334.
- Rapp-Gabrielson, V.J. (1999). *Haemophilus parasuis* In: *Leman, A.D., Straw, B.E., Mengling, W.L., D'Alaire, S., Taylor, D.J. (Hrsg.), Diseases of swine. 8th ed., Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA 1999:475-482.*
- Rapp-Gabrielson, V.J., Kocur, G.J., Clark, J.T. & Muir, S.K. (1997). *Haemophilus parasuis*: immunity in swine following vaccination. *Vet. Med.* 92:83-90.
- Rautiainen, E., Virtala, A.M., Wallgren, P. & Saloniemi, H. (2000). Varying effects of infections with *Mycoplasma hyopneumoniae* on the weight gain recorded in three different multisource fattening pig herds. *J. Vet. Med. B – Infect. Dis. Vet. Public Health.* 47:461-946.
- Rautiainen, E. & Wallgren, P. (2001). Aspects of the transmission of protection against *Mycoplasma hyopneumoniae* from sow to offspring. *J. Vet. Med. B* 48:55-65.

- Reams, R.Y., Glickman, L.T., Harrington, D.D., Bowersock, T.L. & Thacker, H.L. (1993). Streptococcus suis infection in swine: a retrospective study of 256 cases. Part I. Epidemiologic factors and antibiotic susceptibility patterns. *J. Vet. Diagn. Invest.* 5:363-367.
- Reams, R.Y., Harrington, D.D., Glickman, L.T., Thacker, H.L. & Bowersock, T.L. (1995). Fibrinohemorrhagic pneumonia in pigs naturally infected with Streptococcus suis. *J. Vet. Diagn. Invest.* 7:406-408.
- Regula, G., Lichtensteiger, C.A., Mateus-Pinilla, N.E., Scherba, G., Miller, G.Y. & Weigel, R.M. (2000). Comparison of serologic testing and slaughter evaluation for assessing the effects of subclinical infection on growth in pigs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 217:888-895.
- Ribbens, S., Dewulf, J., Koenen, F., Laevens, H., Mintiens, K. & de Kruif, A. (2004). An experimental infection (II) to investigate the importance of indirect classical swine fever virus transmission by excretions and secretions of infected weaner pigs. *J. Vet. Med. B*, 51:438-442.
- Rimler, R.B. & Rhoades, K.R. (1989). Pasteurella multocida. In: *Pasteurella and Pasteurellosis*. C.F. Adlam & J.M. Rutter (Hrsg.), London, Academic Press:37-73.
- Robertson, I.D. & Blackmore, D.K. (1989). Prevalence of Streptococcus suis types 1 and 2 in domestic pigs in Australia and New Zealand. *Vet. Rec.* 124:391-394.
- Robertson, I.D., Blackmore, D.K., Hampson, D.J. & Fu, Z.F. (1991). A longitudinal study of natural infection of piglets with Streptococcus suis types 1 and 2. *Epidemiol. Infect.* 107:119-126.
- Romero, C.H., Meade, P.N., Homer, B.L., Shultz, J.E., Lollis, G. (2003). Potential sites of virus latency associated with indigenous pseudorabies viruses in feral swine. *J. Wildl. Dis.* 39:567-575.
- Rosendal, S. & Mitchell, W.R. (1983). Epidemiology of Haemophilus pleuropneumoniae infection in pigs: A survey of Ontario pork producers, 1981. *Can. J. Comp. Med.* 47:1-5.

- Ross, R.F. (1996). Pathogenic factors in, and pathogenesis of mycoplasmal pneumoniae. *In: A.D. Leman Swine Conf., St. Paul, Proc.:*124-179
- Ross, R.F. (1999). Mycoplasmal diseases. *In: Straw, B.E., D'Allaire, S., Mengeling, W.L., Taylor, D.J. (Hrsg.), Diseases of swine. 8th ed., Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA:*495-509.
- Rossi, S., Artois, M., Pontier, D., Cruciere, C., Hars, J., Barrat, J., Pacholek, X. & Fromont, E. (2005a). Long-term monitoring of classical swine fever in wild boar (*Sus scrofa* sp.) using serological data. *Vet. Res.* 36:27-42.
- Rossi, S., Fromont, E., Pontier, D., Cruciere, C., Hars, J., Barrat, J., Pacholek, X. & Artois, M. (2005b). Incidence and persistence of classical swine fever in free-ranging wild boar (*Sus scrofa*). *Epidemiology and Infection*, 133:559-568.
- Rowland, R.R., Lawson, S., Rossow, K. & Benfield, D.A. (2003). Lymphoid tissue tropism of porcine reproductive and respiratory syndrome virus replication during persistent infection of pigs originally exposed to virus in utero. *Vet. Microbiol.* 96:219-235.
- Rubies, X., Casal, J. & Pijoan, C. (2002). Plasmid and restriction endonuclease patterns in *Pasteurella multocida* isolated from a swine pyramid. *Vet. Microbiol.* 84:69-78.
- Ruiz, A. & Pijoan, C. (2002). Use and interpretation of nPCR from nasal swabs for *Mycoplasma hyopneumoniae* diagnosis. *In: 17th Congr. Int. Pig Vet. Soc., Ames, Iowa, USA 2002, Proc.:*79.
- Ruiz-Fons, F., Vicente, J., Vidal, D., Höfle, U., Villanúa, D., Gauss, C., Segalés, J., Almería, S., Montoro, V. & Gortázar, C. (2006). Seroprevalence of six reproductive pathogens in European wild boar (*Sus scrofa*) from Spain: the effect on wild boar female reproductive performance. *Theriogenology*. 65:731-743.
- Rutter, J.M. (1981). Quantitative observations on Bordetella Bronchiseptica infection in atrophic rhinitis of pigs. *Vet. Rec.* 108:451-454.
- Rutter, J.M. (1985). Atrophic rhinitis in swine. *Adv. Vet. Sci. Comp. Med.* 29:239-279.
- Sabin, A.B. (1934). The immunological relationships of pseudorabies (infectious bulbar paralysis, mad itch). *Br. J. Exp. Pathol.* 15:372-380.

- Saez-Royuela, C. & Telleria, J.L. (1986). The increased population of the wild boar (*Sus scrofa*) in Europe. *Mammal Rev.* 16:97-101.
- Sakano, T., Shibata, I., Samegai, Y., Taneda, A., Okada, M., Irisawa, T. & Sato, S. (1993). Experimental pneumonia of pigs infected with Aujeszky's disease virus and *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *J. Vet. Med. Sci.* 55:575-579.
- Sakano, T., Taneda, A., Okada, M., Ono, M., Hayashi, Y. & Sato, S. (1992). Toxigenic type A *Pasteurella multocida* as a causative agent of nasal turbinate atrophy in swine. *J. Vet. Med. Sci.* 54:403-407.
- Saliki, J.T., Rodgers, S.J. & Eskew, G. (1998). Serosurvey of selected viral and bacterial diseases in wild swine from Oklahoma. *J. Wildl. Dis.* 34:834-838.
- Sanford, S.E. (1989). *Streptococcus suis*: a strategic update. In: *Ann. Meeting of the American Assoc. of Swine Pract., Des Moines 1989, Proc.*:193-195.
- Sanford, S.E. & Rosendal, S. (1984). *Streptococcus suis* type II. Is this a respiratory pathogen of swine? In: *Ann. Meeting of the American Assoc. of Swine Pract., Des Moines 1984, Proc.*:112-115.
- Sanford, S.E. & Tilker, M.E. (1982). *Streptococcus suis* type II-associated diseases in swine: observations of a one-year study. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 181:673-676.
- Schaller, A., Kuhn, R., Kuhnert, P., Nicolet, J., Anderson, T.J., Macinnes, J.I., Segers, R.P. & Frey, J. (1999). Characterization of apxIVA, a new RTX determinant of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Microbiol.* 145:2105-2116.
- Schenk, L.-P. (1999). Seroepidemiologische Untersuchungen zu Influenzavirusinfektionen in den Schweinebeständen Deutschlands am Beispiel Niedersachsens. Berlin, Freie Universität, Fachbereich Veterinärmedizin, Diss.
- Schimmel, D. (1987). Ergebnisse experimenteller Infektionen von SPF-Ferkeln mit *Pasteurella multocida* – Vorschlag eines reproduzierbaren Infektionsmodells. *Arch. Exp. Veterinärmed.* 41:455-62.

- Schimmel, D. (1992). Zum Nachweis von Antikörpern gegen *Pasteurella multocida* Serovar A und D in den Blutseren von Schweinen. *Monatsh. Veterinärmed.* 47:623-625.
- Schmoll, F., Indik, S., Sipos, W. & Klein, D. (2002). Phylogenetic analysis of Austrian PRRSV field isolates. *In: 17th Congr. Int. Pig Vet. Soc., Ames, Iowa, USA 2002, Proc.:*419.
- Schultz, U., Fitch, W.M., Ludwig, S., Mandler, J. & Scholtissek, C. (1991). Evolution of pig Influenza viruses. *Virology* 183:61-73.
- Schurrer, J.A., Dee, S.A., Moon, R.D., Rossow, K.D., Mahlum, C., Mondaca, E., Otake, S., Fano, E., Collins, J.E. & Pijoan, C. (2004). Spatial dispersal of porcine reproductive and respiratory syndrome virus-contaminated flies after contact with experimentally infected pigs. *Am. J. Vet. Res.* 65:1284-1292.
- Segalés, J., Domingo, M., Solano, G.I. & Pijoan, C. (1999). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus and *Haemophilus parasuis* antigen distribution in dually infected pigs. *Vet. Microbiol.* 64:287-297.
- Segalés, J., Rosell, C. & Domingo, M. (2004). Pathological findings associated with naturally acquired porcine circovirus type 2 associated disease. *Vet. Microbiol.* 98:137-149.
- Selbitz, H.J. (2002). Mykoplasmeninfektionen der Schweine. *In: Rolle u. Mayr, A. (Hrsg.): Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre, 7. Auflage, Enke Verlag, Stuttgart:*567-569.
- Senn, M.K., Yoon, K.J., Zimmermann, J.J., Pograichinyy, R.M., Reitz, P.J. & Thacker, B.J. (1998). Characterization of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRSV) virus antibody levels in neonatal swine nursing immune dams. *In: 15th Congr. Int. Pig Vet. Soc., Birmingham 1998, Proc.:*130.
- Sheldrake, R.F. & Rommalis, L.F. (1992). Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay for detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* antibody in porcine serum. *Aust. Vet. J.* 69:255-258.
- Shibata, I., Mori, M. & Uruno, K. (1998b). Experimental infection of maternally immune pigs with porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus. *J. Vet. Med. Sci.* 60:1285-1291.

- Shibata, I., Okada, M., Urono, K., Samegai, Y., Ono, M., Sakano, T. & Sato, S. (1998a). Experimental dual infection of cesarean-derived, colostrum-deprived pigs with *Mycoplasma hyopneumoniae* and pseudorabies virus. *J. Vet. Med. Sci.* 60:295-300.
- Shibata, I., Yazawa, S., Ono, M. & Okada, Y. (2003). Experimental dual infection of specific pathogen-free pigs with porcine reproductive and respiratory syndrome virus and pseudorabies virus. *J. Vet. Med. B* 50:14-19.
- Sidibé, M., Messier, S., Larivière, S., Gottschalk, M. & Mittal, K.R. (1993). Detection of *Actinobacillus pleuropneumoniae* in the porcine upper respiratory tract as a complement to serological tests. *Can. J. Vet. Res.* 57:204-208.
- Simecka, J.W., Davis, J.K., Davidson, M.K., Ross, S.E., Stadtländer, C.T. K-H. & Cassel, G.H. (1992). *Mycoplasma Disease of Animals*. In: J. Maniloff, R.N McElhaney, L.R. Finch u. J.B. Baseman (Hrsg.): *Mycoplasmas: Molecular Biology and Pathogenesis*. American Society for Microbiology, Washington D. C., USA:391-415.
- Smith, I.M. & Giles, C.J. (1980). Vaccines for atrophic rhinitis. *Pig. Farming Suppl.* (Oct.):83.
- Solano-Aguilar, G.I., Pijoan, C., Rapp-Gabrielson, V., Collins, J., Carvalho, L.F., & Winkelmann, N. (1999). Protective role of maternal antibodies against *Haemophilus parasuis* infection. *Am. J. Vet. Res.* 60:81-87.
- Solano, G.I., Segales, J., Collins, J.E., Molitor, T.W. & Pijoan, C. (1997). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) interaction with *Haemophilus parasuis*. *Vet. Microbiol.* 55:247-257.
- Sørensen, V., Ahrens, P., Barfod, K., Feenstra, A.A., Feld, N.C., Friis, N.F., Bille-Hansen, V., Jensen, N.E. & Pedersen, M.W. (1997). *Mycoplasma hyopneumoniae* infection in pigs: duration of the disease and evaluation of four diagnostic assays. *Vet. Microbiol.* 54:23-34.
- Stadejek, T., Stankevicius, A., Storgaard, T., Oleksiewicz, M.B., Belák, S., Drew, T. W. & Pejsak, Z. (2002). Identification of radically different variants of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in Eastern Europe: towards a common ancestor for European and American viruses. *J. Gen. Virol.* 83:1861-1873.

- Stärk, K.D.C., Frey, J., Nicolet, J., Thür, B. & Morris, R.S. (1998). Assessment of aerosol transmission in the epidemiology of infectious diseases in swine using air sampling and polymerase chain reaction assays. *In: 15th Congr. Int. Pig Vet. Soc., Birmingham 1998, Proc.:*252
- Stärk, K.D.C., Keller, H. & Eggenberger, E. (1992). Risk factors for the reinfection of specific pathogen-free breeding herds with enzootic pneumonia. *Vet. Rec.* 131:532-535.
- Steineck, TH. (1994). Rhinitis atrophicans bei in Gattern gehaltenen Wildschweinen. Zit. n. Brömel, Rhinitis atrophicans. *In: Dedek, J. & Steineck, TH. (Hrsg.). Wildhygiene. Gustav Fischer Verlag, Jena – Stuttgart:*67-69.
- Stevenson, G.W., Van Alstine, W.G., Kanitz, C.L. & Keffaber, K.K. (1993). Endemic porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection of nursery pigs in two swine herds without current reproductive failure. *J. Vet. Diagn. Invest.* 5:432-434.
- Storgaard, T., Oleksiewicz, M. & Bøtner, A. (1999). Examination of the selective pressures on a live PRRS vaccine virus. *Arch. Virol.* 144:2389-2401.
- Strasser, M., Abiven, P., Kobisch, M. & Nicolet, J. (1992). Immunological and pathological reactions in piglets experimentally infected with *Mycoplasma hyopneumoniae* and/or *Mycoplasma flocculare*. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 31:141-153.
- Stubbe, C. (2001). Vom Frischling zum Hauptschwein. Wildbiologische Erkenntnisse. *Dt. Landwirtschaftsverlag (Hrsg.):Schwarzwild. Unsere Jagd.Special:*22-27.
- Suaréz, D.L., Spackman, E., Senne, D.A., Bulaga, L., Welsch, A.C. & Froberg, K. (2003). The effect of various disinfectants on the detection of avian Influenza virus by real time RT-PCR. *Avian Dis.* 47:1091-1095
- Swinton, J., Woolhouse, M.E.J., Begon, M.E., Dobson, A.P., Ferroglio, E., Grenfell, B.T., Guberti, V., Hails, R.S., Heesterbeek, J.A.P., Lavanzza, A., Roberts, M. G., White, P.J. & Wilson, K. (2002). Microparasite transmission and persistence. *In: The Ecology of Wildlife Diseases (Ed. by P. J. Hudson, A. Rizzoli, B.T. Grenfell, H. Heesterbeek & A.P. Dobson), Oxford University Press, New York:*83-101.

- Taylor, D.J. (1999): *Actinobacillus pleuropneumoniae*. In: Straw, B.E., D'Allaire, S., Mengeling, W.L., Taylor, D.J. (Hrsg.), *Diseases of swine*. 8th ed., Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA:343-354.
- Terpstra, C. (1987). Epizootiology of swine fever. *Vet. Q.* 9:1-50.
- Terpstra, C., Wensvoort, G. & Pol, J.M.A. (1991). Experimental reproduction of porcine epidemic abortion and respiratory syndrome (mystery swine disease) by infection with Lelystad virus: Koch's postulates fulfilled. *Vet. Q.* 13:131-136.
- Teuffert, J., Sinnecker R. & Karge E. (1991). Seroepidemiologische Untersuchungen mit dem Hämagglutinationshemmtest (HAHT) zum Vorkommen porciner und humaner Influenza-A-Viren bei Haus- und Wildschweinen in der ehemaligen DDR. *Mh. Vet.-Med.* 46:171-174.
- Teuwsen, N. (1980). Das Lüneburger Modell. *Sonderdruck aus Niedersächsischer Jäger 9, Deutscher Landwirtschaftsverlag GmbH, Hannover*
- Thacker, B. & Thacker, E. (2000). The PRDC battle continues. *Pig Prog.*:16-18.
- Thacker, E., Halbur, P. & Thacker, B. (1998). Mycoplasma and PRRSV interactions: Their possible role in PRDC. In: *29th Ann. Meeting American Assoc. Swine Pract., Des Moines, Proc.* :351-356.
- Thacker, E.L. (2001). Porcine respiratory disease complex – what is it and why does it remain a problem? *The Pig Journal* 48, 66-70.
- Thacker, E.L. (2004). Porcine respiratory disease: Mycoplasma hyopneumoniae and porcine circovirus type 2 (PCV-2). In: *Erste Herbsttagung der österreichischen Schweinepraktiker, Wien, Proc.*:72-73.
- Thacker, E.L., Halbur, P.G., Ross, R.F., Thanawongnuwech, R. & Thacker, B.J. (1999). Mycoplasma hyopneumoniae potentiation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus- induced pneumonia. *J. Clin. Microbiol.* 37:620-627.
- Thacker, E.L., Thacker, B.J. & Janke, B.H. (2001). Interaction between Mycoplasma hyopneumoniae and swine influenza virus. *J. Clin. Microbiol.* 39:2525-2530.

- Thanawongnuwech, R., Halbur, P.G., Ackermann, M.R., Thacker, E.L. & Royer, E.L. (1998). Effects of low (modified-live virus vaccine) and high (VR-2385)- virulence strains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) on pulmonary clearance of copper particles in pigs. *Vet. Pathol.* 35:398-406.
- Thanawongnuwech, R., Thacker, B. Halbur, P. & Thacker, E. (2004). Increased production of proinflammatory cytokines following infection with porcine reproductive and respiratory syndrome virus and *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Clin. and Diagn. Lab. Immunol.* 11:901-908.
- Thomson, C.M., Chanter, N. & Wathes, C.M. (1992). Survival of toxigenic *Pasteurella multocida* in aerosols and aqueous liquids. *Appl. Environ. Microbiol.* 58:932-936.
- Tofts, S.W. (1986). Porcine Influenza outbreak. *Vet. Rec.* 120:22.
- Torremorell, M., Calsamiglia, M. & Pijoan, C. (1998). Colonization of suckling pigs by *Streptococcus suis* with particular reference to pathogenic serotype 2 strains. *Can. J. Vet. Res.* 62:21-26.
- Torremorell, M., Pijoan, C., Janni, K., Walker, R. & Joo, H.S. (1997). Airborne transmission of *Actinobacillus pleuropneumoniae* and porcine reproductive and respiratory syndrome virus in nursery pigs. *Am. J. Vet. Res.* 58:828-832.
- Townsend, K.M., Hanh, T.X., O'Boyle, D., Wilkie, I., Phan, T.T., Wijewardana, T.G., Trung, N.T. & Frost, A.J. (2000). PCR detection and analysis of *Pasteurella multocida* from the tonsils of slaughtered pigs in Vietnam. *Vet. Microbiol.* 72:69-78.
- Tozzini, F., Poli, A. & Della Croce, G. (1982). Experimental infection of European wild swine (*Sus scrofa* L.) with pseudorabies virus. *J. Wildl. Dis.* 18:425-428.
- Truvé, J. & Lemel, J. (2003). Timing and distance of natal dispersal for wild boar *Sus scrofa* in Sweden. *Wildlife Biology* 9:51-57.
- Vahle, J.L., Haynes, J.S. & Andrews, J.J. (1995). Experimental reproduction of *Haemophilus parasuis* infection in swine: Clinical, bacteriological, and morphologic findings. *J. Vet. Diagn. Invest.* 7:476-480.

- Vahle, J.L., Haynes, J.S. & Andrews, J.J. (1997). Interaction of *Haemophilus parasuis* with nasal and tracheal mucosa following intranasal inoculation of cesarean derived colostrum deprived (CDCD) swine. *Can. J. Vet. Res.* 61:200-206.
- Vandeputte, J., Pensaert, M. & Castryck, F. (1980). Serologische diagnose en onderzoek naar verspreiding van het varkensinfluenzavirus in België. *Vlaams Diergeneeskd Tijdschr.* 49:1-7.
- Vanderheijden, N., Delputte, P.L., Favoreel, H.W., Vandekerckhove, J., Van Damme, J., Van Woensel, P.A. & Nauwynck, H.J. (2003). Involvement of sialoadhesin in entry of porcine reproductive and respiratory syndrome virus into porcine alveolar macrophages. *J. Virol.* 77:8207-8215.
- Van Alstine, W.G., Stevenson, G.W. & Kanitz, C.L. (1996). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus does not exacerbate *Mycoplasma hyopneumoniae* infection in young pigs. *Vet. Microbiol.* 49:297-303.
- Van der Leek, M.L., Becker, H.N., Pirtle, E.C., Humphrey, P., Adams, C.L., All, B.P., Erickson, G.A., Belden, R.C., Frankenberger, W.B. & Gibbs, E.P. (1993). Prevalence of pseudorabies (Aujeszky's disease) virus antibodies in feral swine in Florida. *J. Wildl. Dis.* 29:403-409.
- Van Gucht, S., Van Reeth, K. & Pensaert, M. (2003). Interaction between porcine reproductive-respiratory syndrome virus and bacterial endotoxin in the lungs of pigs: potentiation of cytokine production and respiratory disease. *J. Clin. Microbiol.* 41:960-966.
- Van Overbeke, I., Chiers, K., Ducatelle, R. & Haesebrouck, F. (2001). Effect of endobronchial challenge with *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 9 of pigs vaccinated with a vaccine containing Apx toxins and transferrin-binding proteins. *J. Vet. Med. B - Infect. Dis. Vet. Public Health.* 48:15-20.
- Van Reeth, K., Brown, I.H. & Pensaert, M. (2000). Isolations of H1N2 influenza A virus from pigs in Belgium. *Vet. Rec.* 146:588-589.
- Van Reeth, K., Nauwynck, H. & Pensaert, M. (2001). Clinical effects of experimental dual infections with porcine reproductive and respiratory syndrome virus followed by swine influenza virus in conventional and colostrums-deprived pigs. *J. Vet. Med.* 48:283-292.

- Van Reeth, K. & Pensaert, M. (1994). Porcine respiratory coronavirus-mediated interference against influenza virus replication in the respiratory tract of feeder pigs. *Am. J. Vet. Res.* 55:1275-1281.
- Van Reeth, K., Van Hoof, D., Willems, L. & Pensaert, M. (1996). A clinical study of dual infections with porcine reproductive-respiratory syndrome virus and swine influenza virus administered with different time intervals. *In: 14th Congr. Int. Pig Vet Soc., Bologna 1996, Proc.*:59.
- Vengust, G., Valencak, Z. & Bidovec, A. (2006). A serological survey of selected pathogens in wild boar in Slovenia. *J. Vet. Med. B – Infect. Dis. Vet. Public Health.* 53:24-27.
- Verkühlen, G.-J. (2005). Vorkommen und medizinische Bedeutung von *Streptococcus suis* beim Wildschwein (*Sus scrofa scrofa*). Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss.
- Verma, N.D. (1988). *Pasteurella multocida* B:2 in haemorrhagic septicaemia outbreak in pigs in India. *Vet. Rec.* 123:63.
- Vicca, J., Maes, D., Thormonte, L., Peeters, J., Haesebrouck, F. & De Kruif, A. (2002). Patterns of *Mycoplasma hyopneumoniae* infections in Belgian farrow-to-finish pig herds with diverging disease-course. *J. Vet. Med. B - Infect. Dis. Vet. Public. Health* 49:349-353.
- Vicca, J., Stakenborg, T., Maes, D., Butaye, P., Peeters, J., De Kruif, A. & Haesebrouck, F. (2003). Evaluation of virulence of *Mycoplasma hyopneumoniae* field isolates. *Vet. Microbiol.* 97:177-190.
- Vicente, J., León-Vizcaíno, L., Gortázar, C., José Cubero, M., González, M. & Martín-Atance, P. (2002). Antibodies to selected viral and bacterial pathogens in European wild boars from southcentral Spain. *J. Wildl. Dis.* 38:649-652.
- Vicente, J., Ruiz-Fons, F., Vidal, D., Höfle, U., Acevedo, P., Villanua, D., Fernandez-de-Mera, I.G., Martín, M.P. & Gortázar, C. (2005). Serosurvey of Aujeszky's disease virus infection in the European wild boar in Spain. *Vet. Rec.*, 156:408-412.
- Vicente, J., Segales, J., Höfle, U., Balasch, M., Plana-Duran, J., Domingo, M. & Gortázar, C. (2004). Epidemiological study on porcine circovirus type 2 (PCV2) infection in the European wild boar (*Sus scrofa*). *Vet. Res.* 35:243-253.

- Voets, M.T. (1990). Evaluation of the challenge model to test AR vaccine. *Proc. Int. Congr. Pig Vet. Soc.* 11:56.
- Vos, J. (2004). Glässer's Disease. *In: 18th Int. Congr. Pig Vet. Soc., Hamburg 2004, Proc.*
- Waldmann, K.H. & Wendt, M. (2004). Chronisch rezidivierende Pneumonie unter Beteiligung des PRRS-Virus (Porcine reproductive and respiratory Syndrom). *In: Lehrbuch der Schweinekrankheiten, 4. Aufl., Parey Buchverlag, Berlin:*126-127.
- Wallgren, P., Artursson, K., Fossum, C. & Alm, G.V. (1993). Incidence of infections in pig bred for slaughter revealed by elevated serum levels of interferon and development of antibodies to *Mycoplasma hyopneumoniae* and *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *J. Vet. Med. B* 40:1-12.
- Wallgren, P., Bölske, G., Gustafsson, S., Mattson, S. & Fossum, C. (1998). Humoral immune response to *Mycoplasma hyopneumoniae* in sows and offspring following an outbreak of mycoplasmosis. *Vet. Microbiol.* 60:193-205.
- Webster, R.G., Bean, W.J., Gorman, O.T., Chambers, T.M. & Kawaoka, Y. (1992). Evolution and ecology of Influenza A viruses. *Microbiol. Rev.* 56:152-179.
- Wensvoort, G., de Kluyver, E.P. & den Besten, A. (1993). Antibodies directed against Lelystad virus in pigs on Dutch farms with reproductive failure or respiratory disease and on random selected farms. *In: 44th Ann. Meet. EAAP, Arhus 1993, Proc.:*409.
- Wensvoort, G., de Kluyver, E.P., Luitze, E.A., den Besten, A., Harris, L., Collins, J. E., Christianson, W.T. & Chladek, D. (1992). Nidovirales: a new order comprising Coronaviridae and Arteriviridae. Antigenic comparison of Lelystad virus and swine infertility and respiratory syndrome (SIRS) virus. *J. Vet. Diagn. Invest.* 4:134-138.
- Whittelstone, P. (1982). Infectious agents associated with porcine respiratory disease. *Proc. Pig Vet. Soc.* 9:71.
- Wieczorek, K., Ulrich, R., Wenning, D., Herwig, V & Dürrwald, R. (2003). Zwischenauswertung des IDT-Diagnostikprogrammes zur Überwachung der Schweineinfluenza in Deutschland. <http://www.idt-direct.de/index.php?page=11>

- Williams, A.E., Blakemore, W.F. & Alexander, T.J.L. (1988). A murine model of *Streptococcus suis* type 2 meningitis in pigs. *Res. Vet. Sci.* 45:394-399.
- Wills, R.W., Zimmerman, J.J., Swenson, S.L., Yoon, K.J., Hill, H.T., Bundy, D.S. & McGingley, M.J. (1997a). Transmission of PRRSV by direct, close, or indirect contact. *J. Swine Health Prod.* 5:213-218.
- Wills, R.W., Zimmerman, J.J., Yoon, K., Swenson, S.L., Hoffmann, L., McGingley, M.J., Hill, H.T. & Platt, K.B. (1997b). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus: Routes of excretion. *Vet. Microbiol.* 57:69-81.
- Wills, R.W., Zimmerman, J.J., Yoon, K.J., Swenson, S.L., McGinley, M.J., Hill, H.T., Platt, K.B., Christopher-Hennings, J. & Nelson, E.A. (1997c). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus: a persistent infection. *Vet. Microbiol.* 55:231-240.
- Witte, K.H., Nienhoff, H., Ernst, H., Schmidt, U. & Prager, D. (1981). First outbreak of swine influenza in pig herds in the Federal Republic of Germany. *Tierärztl. Umsch.* 36:591-606.
- Wittmann, G. & Rziha, H.-J. (1989). Aujeszky's disease (pseudorabies) in pigs. In: Wittmann G. (Hrsg.) *Herpesvirus disease of cattle, horses and pigs*. Boston, MA: Kluwer Academic Publishers:230-325.
- Wöste, K. (2007). Beschreibung des aktuellen Wissensstandes zur Übertragung ausgewählter viraler und bakterieller Erreger respiratorischer Erkrankungen zwischen Schweinebeständen. Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss.
- Yazawa, S., Okada, M., Ono, M., Fujii, S., Okuda, Y., Shibata, I. & Kida, H. (2004). Experimental dual infection of pigs with an H1N1 swine influenza virus (A/Sw/Hok/2/81) and *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Vet. Microbiol.* 98:221-228.
- Yoon, I.J., Joo, H.S., Christianson, W.T., Kim, H.S., Collins, J.E., Morrison, R.B. & Dial, G.D. (1992). An indirect fluorescent antibody test for the detection of antibody to swine infertility and respiratory syndrome virus in swine sera. *J. Vet. Diagn. Invest.* 4:144-147.

- Yoon, I.J., Joo, H.S., Goyal, S.M. & Molitor, T.W. (1994). A modified serum neutralization test for the detection of antibodies to porcine reproductive and respiratory syndrome virus in swine sera. *J. Vet. Diag. Invest.* 6:289-297.
- Yoon, K.J. (2001). Genetic and antigenetic stability of PRRS virus in persistently infected pigs. *Research Report Swine Health. Pork checkoff.* <http://www.porkboard.org/>
- Zhang, X. (1989). Seroepidemiologische Studien mit dem Single Radial Hämolysen Test (SRHT) zum Vorkommen porciner und humaner Influenza-A-Virusinfektionen bei Schweinen. Vet. Med. Diss., Gießen.
- Zhao, G., Pijoan, C. & Murtaugh, M.P. (1993). Epidemiology of *Pasteurella multocida* in a farrow-to-finish swine herd. *Can. J. Vet. Res.* 57:136-138.
- Zhao, G., Pijoan, C., Murtaugh, M.P. & Molitor, T.W. (1992). Use of restriction endonuclease analysis and ribotyping to study epidemiology of *Pasteurella multocida* in closed swine herds. *Infect. Immun.* 60:1401-1405.
- Zimmerman, J.J., Yoon, K.J., Pirtle, E.C., Wills, R.W., Sanderson, T.J. & McGinley, M.J. (1997a). Studies of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus infection in avian species. *Vet. Microbiol.* 55:329-336.
- Zimmerman, J.J., Yoon, K.J., Wills, R.W. & Swenson, S.L. (1997b). General overview of PRRSV: a perspective from the United States. *Vet. Microbiol.* 55:187-196.
- Župančić, Z., Jukić, B., Lojkić, M., Čač, Z., Jemeršić, L. & Starešina, V. (2002). Prevalence of antibodies to classical swine fever, Aujeszky's disease, porcine reproductive and respiratory syndrome, and bovine viral diarrhoea viruses in wild boars in Croatia. *J. Vet. Med. B* 49:253-256.

9. Anhang

9.1 Ansätze für verwendete Lösungen

1 M DTT -Lösung

Verwendete Chemikalien für 1 ml Lösung.:

1 M DTT (Roth, Karlsruhe)	0,154 g
DEPC Wasser (Fa. QIAGEN, Hilden)	1000 µl

TAE-Puffer für Agarose-Gelelektrophorese (50 fach)

Verwendete Chemikalien:

2 M Tris-Base (Roth, Karlsruhe)	242,28 g
1 M Essigsäure (Roth, Karlsruhe)	60,05 g
50 mM EDTA (Roth, Karlsruhe)	18,61 g
Aqua bidest.	ad 1000 ml

Einstellen mit 5N NaOH/ 1N HCL auf pH 8,3

Autoklavieren und Lagerung bei +4 °C

Zum Gebrauch 1/50 verdünnen

Agarosegel, 2 % bzw. 3 %

Verwendete Chemikalien für 100 ml Lösung:

Agarose NEEO Ultra (Roth, Karlsruhe)	2 g bzw. 3 g
Ethidiumbromid 1% (Roth, Karlsruhe)	5 µl
TAE-Puffer (1fach)	ad 100 ml

9.2 Danksagung

Zu Letzt möchte ich mich bei all denen bedanken, die zum erfolgreichen Gelingen dieser Dissertation beigetragen haben.

Mein Dank gilt insbesondere folgenden Personen:

An erster Stelle meinem Doktorvater Prof. Dr. Dr. G. Reiner für die Überlassung des Themas und die jederzeit unkomplizierte Unterstützung bei der Anfertigung der Dissertation.

Ebenso den Mitarbeitern des molekularbiologischen Labors der Professur für Schweinekrankheiten Sigrid Franke, Nadine Mühlhäuser und PD Dr. Hermann Willems für die Einführung in die Untersuchungstechniken und nicht zu Letzt für die schöne gemeinsame Laborzeit.

Den Mitarbeitern des Institutes für Hygiene und Infektionskrankheiten der Tiere der JLU Gießen für deren unermüdlichen Einsatz bei der bakteriologischen Untersuchung der Wildschweintonsillen.

Meinem Vater und seinen Jagdfreunden, für ihre Unterstützung bei der Probenbeschaffung und für die schöne Zeit während diverser im Rahmen der Doktorarbeit besuchten Jagden.

Unbedingt zu erwähnen ist auch die Hilfsbereitschaft aller involvierten Jäger und Jagdpächter, ohne deren Erlaubnis und Mithilfe die Probenentnahme nicht möglich gewesen wäre.

Ganz besonderer Dank gilt meiner Prüfungsgruppe, Cornelia Hübler, Charlotte Kurz und Conny Mäckler, die mit mir bislang im wahrsten Sinne des Wortes durch alle Prüfungen gegangen sind.

Heidi für die vielen wertvollen Ratschläge und die Erstkorrektur des Literaturteils.

Kathrin und Heidi für die fachmännische Betrachtung der englischen Zusammenfassung.

Michael für die unendliche Geduld beim Ausleihen des Laptops.

Sandra für die aufschlussreichen Tipps zum Formatieren der Arbeit.

Petra, die mir neben der Arbeit in unserer kleinen Praxis immer mehr als genug Freiraum für die Erstellung der Dissertation gelassen hat.

Zum Schluss geht der größte Dank an meine Familie, die alle Stimmungsschwankungen, die eine Doktorarbeit mit sich bringt, geduldig ertragen und mich nicht nur bei der Erstellung der Dissertation jederzeit ausnahmslos unterstützt hat.

10. Erklärung

Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbstständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.

Christina Fresen



édition scientifique

VVB LAUFERSWEILER VERLAG

VVB LAUFERSWEILER VERLAG
STAUFENBERGRING 15
D-35396 GIESSEN

Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890
redaktion@doktorverlag.de
www.doktorverlag.de

ISBN 3-8359-5391-5



9

178383511953918